N° d'ordre : 200

THÈSE

PRÉSENTÉE DEVANT

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX I

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE

DOCTEUR-INGÉNIEUR

PAR

Jean-Claude GOULIN

INGÉNIEUR-CHIMISTE E. N. S. C. B.
LICENCIÉ ÈS SCIENCES PHYSIQUES

Mise en évidence par diffusion Rayleigh dépolarisée des intéractions intra-moléculaires dans le cholestérol et inter-moléculaires entre le cholestérol et les alcanes normaux

---

Soutenue le 28 juin 1974, devant la Commission d'Examen :

M. A. PACAULT Membre correspondant de l'Institut
Professeur, Université de Bordeaux I ..... *Président.*

R. LALANDE, Professeur, Directeur de l'E.N.S.C.B. .....
P. BOTHOREL, Professeur, Université de Bordeaux I ..... *Examinateurs.*
C. LUSSAN, Professeur, Université de Bordeaux II .....
C. CLÉMENT, Docteur ès Sciences .....

— 1974 —

N° d'ordre : 200

THÈSE

PRÉSENTÉE DEVANT

L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX I

POUR OBTENIR LE DIPLOME DE

DOCTEUR-INGÉNIEUR

PAR

Jean-Claude GOULIN

INGÉNIEUR-CHIMISTE E. N. S. C. B.
LICENCIÉ ÈS SCIENCES PHYSIQUES

Mise en évidence par diffusion Rayleigh dépolarisée des intéractions intra-moléculaires dans le cholestérol et inter-moléculaires entre le cholestérol et les alcanes normaux

---

Soutenue le 28 juin 1974, devant la Commission d'Examen :

M. A. PACAULT Membre correspondant de l'Institut
Professeur, Université de Bordeaux I..... *Président.*

R. LALANDE, Professeur, Directeur de l'E.N.S.C.B.....
P. BOTHOREL, Professeur, Université de Bordeaux I..... } *Examinateurs.*
C. LUSSAN, Professeur, Université de Bordeaux II.....
C. CLÉMENT, Docteur ès Sciences .....

— 1974 —

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A MA FEMME,

Cette étude a été réalisée au Centre de Recherches Paul Pascal, dirigé par Monsieur le Professeur A. PACAULT. Je lui suis profondément reconnaissant de m'y avoir accueilli. Je le remercie respectueusement de me faire l'honneur de présider mon Jury de thèse.

Monsieur le Professeur P. BOTHOREL m'a réservé un excellent accueil dans son groupe de recherche. Ses conseils m'ont été précieux et je tiens à lui témoigner toute ma reconnaissance.

Monsieur le Professeur R. LALANDE, à qui je dois une partie de ma formation, a bien voulu juger ce travail. Je lui exprime ma profonde gratitude.

Je remercie vivement Monsieur le Professeur C. LUSSAN d'avoir accepté de juger ce travail.

Je tiens à remercier tout particulièrement Monsieur C. CLEMENT, qui m'a proposé le sujet de cette thèse et a dirigé avec intérêt et bienveillance ce travail. Ses nombreux conseils, son aide constante et amicale m'ont été d'un grand secours tout au long de cette étude. Je lui en suis très reconnaissant.

Enfin, je remercie mes camarades de laboratoire ainsi que le personnel des services généraux du Centre de Recherches Paul Pascal, qu'il s'agisse des services techniques ou des services administratifs (secrétariat, impression...) pour leur étroite et sympathique collaboration.

SOMMAIRE

INTRODUCTION : Aperçu de l'importance des propriétés biologiques du cholestérol liées à ses interactions intermoléculaires.

PREMIERE PARTIE : RAPPELS SUR LA NOMENCLATURE ET LA STEREOCHIMIE DES STEROIDES

I Jonction des cycles
II Position des substituants
III Conformations
IV Classification sommaire des stéroïdes étudiés

DEUXIEME PARTIE : RESULTATS EXPERIMENTAUX

I - Détermination expérimentale de l'anisotropie optique

1 - Principe de la méthode
2 - Conditions expérimentales

II - Valeurs expérimentales

1 - Cholestérol
2 - Dérivés substitués en position 3β
3 - Autres stéroïdes
4 - Anisotropies optiques de quelques stéroïdes en solution dans les alcanes normaux

TROISIEME PARTIE : CALCUL DE L'ANISOTROPIE OPTIQUE MOLECULAIRE

A) Calcul direct de l'anisotropie optique moléculaire
B) Calcul à l'aide du modèle d'interactions électrostatiques

I - Principe
II - Programme de calcul

QUATRIEME PARTIE : COMPARAISON DES RESULTATS EXPERIMENTAUX AUX VALEURS CALCULEES DE L'ANISOTROPIE OPTIQUE - DISCUSSION

A) Cycles saturés non substitués

I - Problème posé par le choix des liaisons en interactions lors de l'application du modèle d'interactions électrostatiques

II - Comparaison des résultats

B) Le 5α-cholestane et le cholestérol

I - Comparaison des anisotropies optiques expérimentales et calculées.

II - Calcul de l'anisotropie optique des liaisons déduit des valeurs des anisotropies optiques moléculaires expérimentales.

III - Etude critique de l'écart théorie-expérience.

1/ Etude de la conformation de la chaîne aliphatique du cholestérol

2/ Mise en évidence de l'état monomère du cholestérol en solution très diluée

a) Associations par pont hydrogène

α) Spectroscopie infrarouge

β) Anisotropie optique du 5-cholestène - 3β méthoxy

b) Association par forces de dispersion - Etude des solutions cholestérol - éther éthylique.

C) Autres stéroïdes

I - Stéroïdes substitués en position 17β

II - Stéroïdes substitués en position 3β

III - Stéroïdes substitués simultanément en 3β et 17β

1/ Fonction alcool en position 3β

2/ Fonction cétone en position 3

3/ Chaîne isooctanique en position 17β

IV - Etude de l'influence de la liaison insaturée 5-6 sur la valeur de l'anisotropie optique moléculaire.

V - Conclusion

CINQUIEME PARTIE : INTERACTIONS ORIENTEES CHOLESTEROL - ALCANES NORMAUX

I - Paramètre $J_{12}^{A\infty}$ de corrélation d'orientations moléculaires

II - Interprétation des valeurs de $J_{12}^{A\infty}$

1/ Analyse globale des résultats

2/ Analyse détaillée des résultats

a) Importance du plateau cyclopentano-perhydrophénanthrènique

b) Rôle de la substitution en 3β

α) Cas de la fonction alcool

β) Cas de la liaison C-Cl

c) Rôle de la fonction cétone

α) Fonction cétone sur les stéroïdes saturés

β) Fonction cétone sur les stéroïdes insaturés

d) Importance de la liaison insaturée 5-6

III - Conclusion

CONCLUSION GENERALE

APPENDICE : Etablissement de l'expression de $J_{12}^{A\infty}$

INTRODUCTION

APERCU DE L'IMPORTANCE DES PROPRIETES BIOLOGIQUES DU CHOLESTEROL LIEES A SES INTERACTIONS INTERMOLECULAIRES

Le cholestérol est le stérol présent dans toutes les cellules des vertébrés en particulier dans le cerveau, le cordon médulaire et dans les huiles et graisses animales. Il participe avec les phospholipides à la constitution des membranes cellulaires ; il entre également dans la constitution de la gaine de myéline du tissu nerveux. Son existence pathologique a été reconnue dans les parois vasculaires (artériosclérose) et dans les calculs biliaires (entrevue dès 1769) |1|.

En dehors de son aptitude à intervenir directement dans la constitution cellulaire, le cholestérol sert de précurseur à de nombreux autres stéroïdes essentiels : acides biliaires, hormones stéroïdes, cortico-surrénales et sexuelles, vitamines D.

La présence du cholestérol dans de nombreux types de membranes biologiques se traduit en particulier par le rôle qu'il joue dans la structure de la partie lipidique de la membrane. Si les chaînes aliphatiques des phospholipides sont insaturées, à la température ordinaire (elles sont alors liquides), le cholestérol interagit fortement avec celles-ci, tendant à les rigidifier ; au contraire lorsque ces chaînes sont saturées (elles sont alors solides à la température ordinaire), le cholestérol interagit avec elles et augmente de ce fait leur liberté de mouvement |2|. Ceci a amené certains chercheurs à conclure que le cholestérol régule la fluidité des zones lipidiques membranaires |3|. Voyons quelques unes des expériences qui sont à l'origine de cette conclusion.

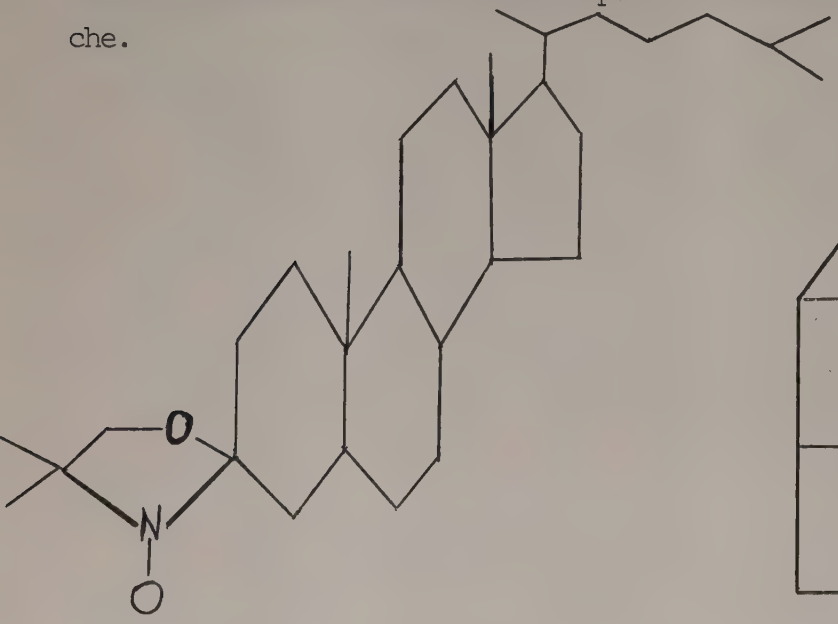
I - Le cholestérol régulateur de la mobilité des chaînes aliphatiques

Le cholestérol fait diminuer la quantité de chaleur absorbée au cours de la transition de la phase gel à la phase cristal liquide des systèmes à couches bimoléculaires de phospholipides et de cholestérol. Elle diminue en fonction de la concentration en cholestérol jusqu'au moment où on n'observe plus de transition |4|, |5|.

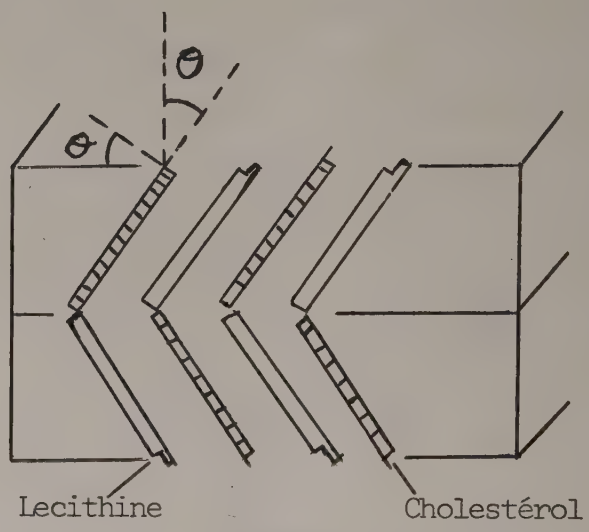
Le même phénomène se produit dans les systèmes équimoléculaires de cérébroside - cholestérol et sphingomyéline - cholestérol, principaux composants de la myéline. Au-dessus de la température de transition, les chaînes sont "immobilisées" par le cholestérol et au-dessous elles sont essentiellement "fluidisées" |3, 6 à 8|. Un "état de fluidité intermédiaire", comme l'appelle D. CHAPMAN, est produit par le cholestérol |3|.

Au-dessus de la température de transition, le cholestérol défavorise la formation d'isomères gauches et cause une augmentation marquée de la rigidité des chaînes, comme l'a noté R. MENDELSOHN par spectroscopie Raman sur des systèmes de lécithine d'oeuf |9|.

HUBBELL et MAC CONNELL, J.C. HSIA, H. SCHNEIDER et I.C.P. SMITH |10|, ont montré que le cholestérol augmente le degré d'ordre d'une structure de lécithine d'oeuf hydratée à couches bimoléculaires. Ce degré d'ordre est mis en évidence par l'étude en résonance électronique de spin du dérivé du cholestane dont la formule est représentée par le schéma n°1. Il est caractérisé par l'angle θ que forme l'axe longitudinal du radical et la normale au plan lamellaire (schéma n°2). La valeur de θ diminue lorsque le taux de cholestérol augmente dans la bicouche, diminuant ainsi l'ouverture du cône décrit par θ autour de l'axe perpendiculaire à la bicouche.



SCHEMA (1)



SCHEMA (2)

θ est aussi l'angle formé par l'orbitale $2p_\pi$ du groupement nitroxyde et la surface de la bicouche.

II - ACTION DU CHOLESTEROL SUR LES PHOSPHOLIPIDES

En déterminant la variation de la surface moléculaire moyenne de la lécithine en fonction de la concentration en cholestérol, L. DE BERNARD |11| a constaté que les aires de tous les mélanges sont nettement inférieures à celles que l'on aurait avec des mélanges idéaux, qui donneraient une simple additivité des aires des constituants purs |2|. Il y a donc interaction cholestérol-lécithine avec contraction. Deux singularités sont mises en évidence dans la variation de la surface moléculaire en fonction de la concentration en cholestérol, correspon-

dant aux proportions simples d'une molécule de lécithine pour 3 de cholestérol et d'une de cholestérol pour 3 de lécithine |11|.

III - CHOLESTEROL ET PERMEABILITE DES LIPOSOMES (*)

Une baisse de perméabilité des liposomes au glycérol et à l'érythritol apparaît quand le cholestérol est présent dans le liposome |13| |14| |15| |16|.

On a aussi observé une baisse de perméabilité des liposomes au glucose et à l'ion Rb^+ due à la présence du cholestérol |17|. Cette réduction de perméabilité est fortement influencée par la réduction des libertés des mouvements des chaînes hydrocarbonées |18|.

IV - LE CHOLESTEROL AGIT COMME "TRANSPORTEUR" DANS LE COMPLEXE LIPOPROTEINIQUE

Le cholestérol dans le plasma facilite le transport des graisses (glycérides) suivant le schéma :

$$\text{lipoprotéine A} \left\{\begin{matrix}\text{protéine}\\ \text{phospholipide}\\ \text{cholestérol}\\ \text{glycérides}\end{matrix}\right\} \underset{+\ \text{glycérides}}{\overset{-\ \text{glycérides}}{\rightleftharpoons}} \left\{\begin{matrix}\text{protéine}\\ \text{phospholipide}\\ \text{cholestérol}\end{matrix}\right\} \text{lipoprotéine B}$$

Cette propriété du cholestérol serait liée au fait qu'il semble s'associer pour former un complexe avec d'autres lipides |19|.

En résumé, le rôle important que joue le cholestérol dans les phénomènes biologiques se traduit par deux faits :

- il sert de précurseur aux hormones stéroïdiques
- il interagit fortement avec les chaînes carbonées des phospholipides ce qui lui donne des propriétés suivantes :
  - réguler la "fluidité des chaînes"
  - réduire la perméabilité des membranes
  - s'associer avec certaines protéines pour donner lieu à l'existence d'un complexe : cholestérol-phospholipide-protéine.

(*) Rappelons que des liposomes sont des vésicules sphériques, creux, formés d'une

Il existe une autre propriété particulière aux dérivés du cholestérol, elle aussi liée à l'existence des interactions moléculaires : c'est la possibilité qu'ils ont de donner lieu à l'existence de phases mésomorphes.

V - LES DERIVES DU CHOLESTEROL FORMENT DES CRISTAUX LIQUIDES PRES DE LEUR TEMPERATURE DE FUSION

Parmi les composés qui donnent lieu à l'existence des phases cholestériques ou à des cristaux liquides, on trouve des dérivés halogénés ou estérifiés des stérols alors que le cholestérol fond sans présenter de phases mésomorphes. GRAY |20| explique ce fait en supposant que, contrairement à ses dérivés, le cholestérol est fortement autoassocié par sa fonction alcool et forme ainsi un cristal à haut point de fusion qui ne peut pas présenter de transition de phase.

Cependant le cholestérol, mélangé à d'autres produits, induit des phases mésomorphes ; en effet MLODZIEJOWSKI |21| a remarqué que des mélanges de cholestérol et de 1-hexadécanol, de cholestérol et de glycérol donnent lieu à des phases mésomorphes ; GAUBERT a aussi obtenu des phases mésomorphes en mélangeant du cholestérol avec d'autres composés non mésomorphes tels que la succinimide, les acides malique, maléique, malonique, succinique, cinnamique ou lactique |22|.

GRAY explique ces faits en supposant que le cholestérol se lie par liaisons hydrogène avec le glycérol ou d'autres composés ; ainsi la compacité et la rigidité du cristal de cholestérol sont rompues ; cependant les attractions intermoléculaires restent encore suffisamment fortes pour rendre possible l'existence d'une phase mésomorphe.

Comme nous venons de le voir, le cholestérol ou certains de ses dérivés sont des composés dont le rôle dans les phénomènes biologiques ou autres est important. Or ce rôle joué par le cholestérol est essentiellement dû aux interactions qu'il est susceptible de présenter avec un partenaire.

Les travaux relatifs aux interactions du cholestérol avec les phospholipides de la membrane sont relativement récents (FINEAN (1953) |23|, VANDENHEUVEL, F.A. (1963) |24|, PETHICA (1964) |25|). On peut aussi citer les travaux encore plus récents de CHAPMAN (1963) |26| et de I.C.P. SMITH (1970) |12|. A Bordeaux,

E. MONNIOT a récemment présenté (1971) un mémoire sur ce sujet |27|.

Il nous a paru important d'étudier plus en détail la nature de ces interactions au niveau moléculaire en schématisant, dans une première approche, les chaînes aliphatiques des phospholipides par des alcanes normaux, la majorité des travaux précédents se situant au niveau macroscopique.

Pour ce faire, nous utiliserons la Diffusion Rayleigh Dépolarisée qui s'est révélée être un puissant moyen d'études des corrélations d'orientation |28|.

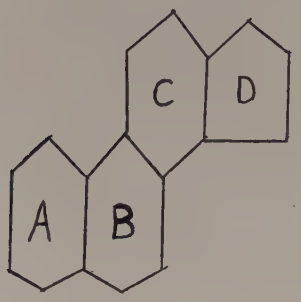
A cet effet, notre étude sera divisée selon le plan suivant :

1ère partie : Rappel sur la nomenclature et la stéréochimie des stéroïdes
2ème partie : Résultats expérimentaux
3ème partie : Calcul de l'anisotropie optique moléculaire
4ème partie : Comparaison des résultats expérimentaux aux valeurs calculées. Discussion.
5ème partie : Interactions orientées cholestérol-alcanes normaux.

PREMIERE PARTIE

RAPPELS SUR LA NOMENCLATURE ET LA STEREOCHIMIE DES STEROIDES

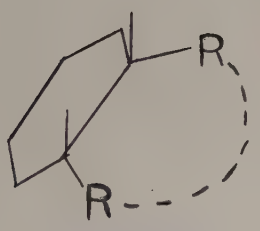
Le squelette des stéroïdes est constitué par le cyclopentano-perhydrophénanthrène. C'est un hydrocarbure cyclique saturé qui porte le nom de stérane.



Stérane

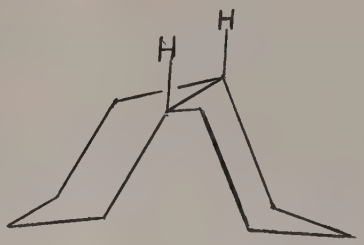
I - JONCTION DES CYCLES

La jonction des deux cycles saturés peut se faire de deux manières : cis ou trans.

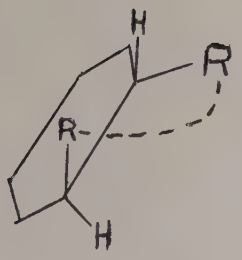


Jonction cis

Exemple :

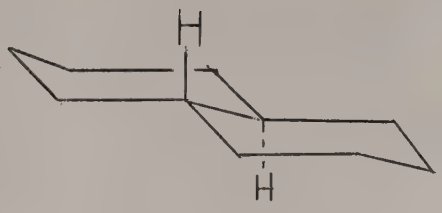


Cis-décaline



Jonction trans

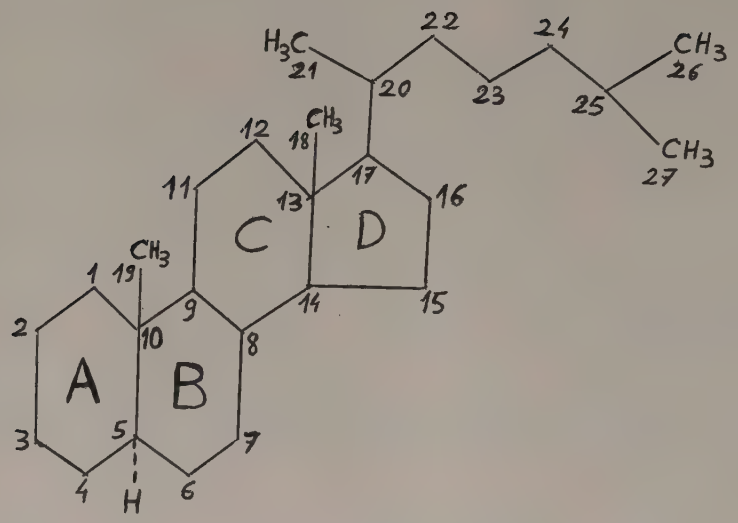
Exemple :



Trans-décaline

Dans le stérane 4 cycles sont reliés entre eux, dénommés A,B,C et D. On constate que dans tous les stéroïdes naturels, les cycles B et C,C et D ont toujours une jonction trans. Seuls les cycles A et B sont accolés suivant une jonction cis ou trans.

La numérotation des atomes de carbone s'effectue selon le schéma indiqué sur la figure suivante |29| :



5α - cholestane

Si la jonction des cycles A et B est trans, l'hydrogène lié à l'atome de carbone numéroté 5 est au-dessous du plan moyen des cycles du stéroïde, c'est le 5α-cholestane ; inversement si la jonction des cycles A et B est cis, cet hydrogène est au-dessus de ce plan moyen, le stéroïde s'appelle 5β-cholestane.

Il en résulte que dans le cas du 5α-cholestane, les atomes d'hydrogène et les groupements méthyle sont alternés par rapport au plan moyen des cycles. Dans le cas du 5β-cholestane, seul l'hydrogène lié à l'atome de carbone 5 échappe à cette règle d'alternance et se trouve situé au-dessus du plan moyen.

REMARQUE: L'introduction d'une liaison multiple carbone-carbone 5-6 dans le cycle B supprime l'existence de l'atome d'hydrogène en position 5 et par là-même les possibilités d'isoméries cis-trans des cycles A et B (à cause de la présence en position 10 du groupement méthyle).

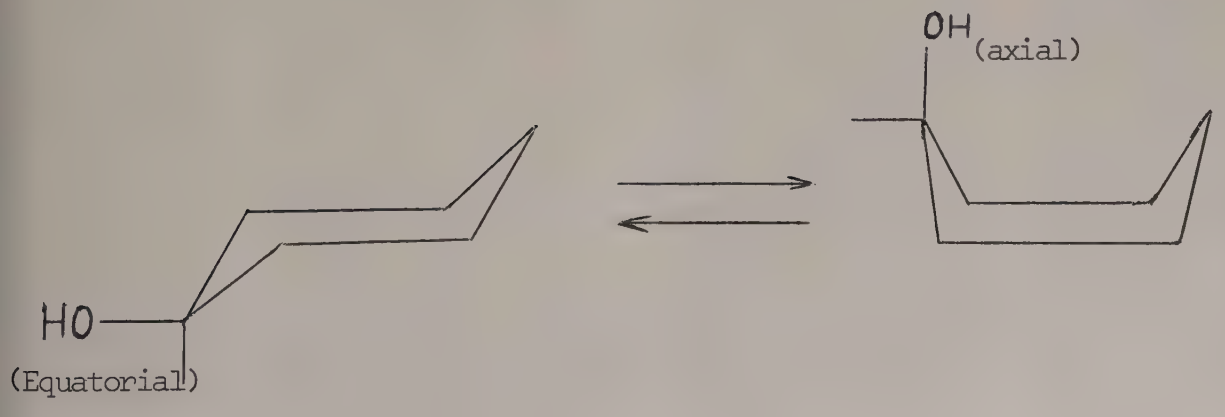
II - POSITION DES SUBSTITUANTS

Suivant que le substituant se situe au-dessus ou au-dessous du plan moyen des cycles (appelé aussi plan équatorial), ou encore du même côté que le groupement méthyle en 10 ou de l'autre côté de ce même groupement méthyle par rapport au plan équatorial, on désigne comme précédemment par β et α les positions correspondantes du substituant.

Par exemple, dans le cas du cholestérol, l'hydroxyle en 3 est en position cis par rapport au groupement méthyle en 10, il est donc situé au-dessus du plan équatorial de la molécule c'est donc un 3β hydroxyle. Dans ces conditions le cholestérol correspond à la nomenclature officielle suivante : 5-cholestène-3β ol.

III - CONFORMATIONS

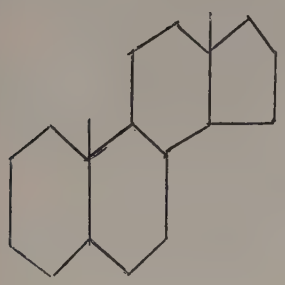
Les cycles peuvent en particulier adopter 2 types de conformations : "chaise" ou "bateau" ; suivant ces conformations, les substituants sont en position axiale ou équatoriale |30|. A température ordinaire, on sait que la conformation la plus stable du cycle correspond à la forme "chaise". (voir en particulier la référence |30|).



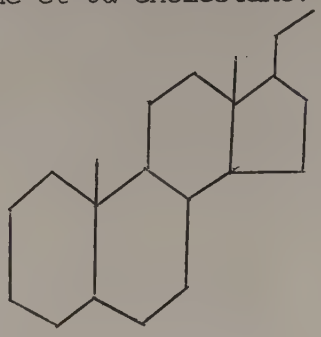
"Chaise" "bateau"

IV - CLASSIFICATION SOMMAIRE DES STEROIDES ETUDIES

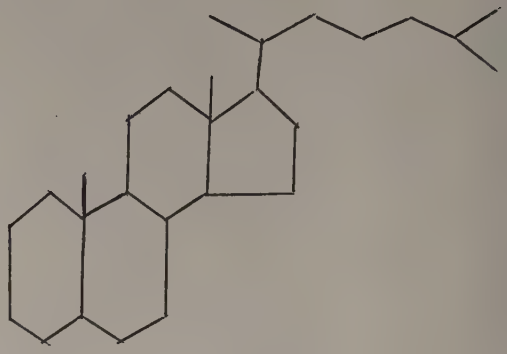
Les principaux stéroïdes que nous avons étudiés sont des dérivés substitués du 5α-androstane, 5α-pregnane et 5α-cholestane.



5α-androstane



5α-pregnane



5α-cholestane

Le tableau n°1 situe le cholestérol dans l'ensemble des stéroïdes |1|.

Groupe	Représentants	Formule brute	Origine et fonction
Stérols	Cholestérol	$C_{27}H_{46}O$	Universellement répandu, précurseur
C_{27}-C_{30}	Δ7-dihydro-cholestérol	$C_{27}H_{44}O$	Provitamine D
avec 3β-OH	Ergostérol	$C_{28}H_{44}O$	Levure
Acides biliaires			
C_{24}	acide cholique	$C_{24}H_{40}O_5$	Bile et intestin résorption des graisses
Hormones	Progestérone	$C_{21}H_{30}O_2$	Corps jaune-hormone
Groupe C_{21}	Cortisone	$C_{21}H_{30}O_3$	Cortico-surrénales
	Cortisol	$C_{21}H_{30}O_5$	Cortico-surrénales
Groupe C_{19}	Testostérone	$C_{19}H_{28}O_2$	Hormone testiculaire
Groupe C_{18}	Oestradiol	$C_{18}H_{24}O_2$	Hormone folliculaire

TABLEAU I

DEUXIÈME PARTIE

RESULTATS EXPERIMENTAUX

I - DETERMINATION EXPERIMENTALE DE L'ANISOTROPIE OPTIQUE

1 - Principe de la méthode

La théorie classique de la diffusion Rayleigh Dépolarisée permet de lier l'intensité diffusée par le soluté à son anisotropie optique moléculaire γ^2.

En solution la valeur de l'anisotropie optique du soluté est donnée par la relation :

$$\gamma^2_{soluté} = \frac{135\,\lambda^4}{16\pi^4 \mathcal{N}} \frac{M}{c} \left[i_{solution} \frac{1}{(n^2+2)^2} - i^\circ_o \frac{c_o}{d_o} \frac{1}{(n_o^2+2)^2} \right] \frac{1}{VE_z^2}$$

formule dans laquelle :

λ : désigne la longueur d'onde du faisceau incident
$\mathcal{N}$: le nombre d'Avogadro
M : la masse moléculaire du soluté
c : la concentration du soluté
$i_{solution}$: l'intensité dépolarisée diffusée par la solution
i°_o : l'intensité dépolarisée diffusée par la molécule du solvant pur occupant le volume V
c_o : la concentration du solvant
d_o : la densité du solvant
n_o : l'indice de réfraction du solvant
n : l'indice de réfraction de la solution
V : le volume diffusant
E_z : la composante du champ électrique perpendiculaire à la direction du faisceau incident

La constance de l'anisotropie optique du soluté en fonction de la concentration implique alors que la fonction y (c) définie par la relation :

$$y(c) = i_{solution} \frac{1}{(n^2+2)^2} - i^\circ_o \frac{c_o}{d_o} \frac{1}{(n_o^2+2)^2}$$

soit proportionnelle à c.

Cette proportionnalité a toujours été vérifiée, aux erreurs d'expérience près, dans le domaine de concentration précédemment défini. L'extrapolation à concentration nulle de la droite y=f(c) permet la détermination précise de sa pente et donc la détermination précise de l'anisotropie optique moléculaire du soluté à dilution infinie, γ_∞^2.

γ_∞^2 est l'anisotropie optique moléculaire "apparente". En effet cette valeur peut dépendre du solvant suivant l'existence de corrélations orientées solvant-soluté, cependant les anisotropies optiques des divers solutés étudiés dans le même solvant sont directement comparables |31|.

2 - Conditions expérimentales

Les produits utilisés sont d'origine "Fluka" ou "Stéraloïds". Certains d'entre eux ont été purifiés par plusieurs recristallisations successives dans l'éthanol anhydre.

Ne disposant pas de 5-cholestène-3β méthoxy, nous en avons fait la synthèse suivant la méthode décrite ci-dessous. Le cholestérol est attaqué par le diazométhane en présence d'un catalyseur : l'acide fluoborique en solution dans le chlorure de méthylène anhydre. Le diazométhane est préparé par attaque du paratolylsulphométhylnitrosamide par la potasse dans le chlorure de méthylène et l'excès de diazométhane qui n'a pas réagi est détruit par l'acide acétique.

La purification du produit se fait par chromatographie sur colonne de silice, et le contrôle de pureté, par chromatographie sur couches minces de silice.

Nous nous sommes assurés que le produit final était bien le 5-cholestène-3β méthoxy par spectroscopie infrarouge de la bande de vibration de la liaison O-CH_3 et par spectrographie de masse effectuée à l'Institut du Pin et en comparant le spectre obtenu avec le spectre fourni par S.S. FRIEDLAND et G.H. LANE |32| (*).

(*) Nous tenons à remercier Mademoiselle FRANCOIS du Laboratoire de Chimie Appliquée de l'Université de Bordeaux I pour ses conseils lors de la préparation de ce produit.

Les solutions étudiées sont préparées suivant la technique habituelle |31|. Les mesures de l'intensité dépolarisée diffusée i sont effectuées à 25°C à l'aide d'un gamma-diffusomètre avec la longueur d'onde λ=5461 Å |33|. Les mesures sont relatives ; le liquide étalon étant le cyclohexane |34|, la valeur de la constante dépolarisée de Lord Rayleigh est de $23,15.10^{-18} cm^{-1}$.

II - VALEURS EXPERIMENTALES

1 - Le cholestérol

Le tableau n°2 présente les valeurs de l'anisotropie optique moléculaire déduites des mesures des intensités dépolarisées diffusées par les solutions de cholestérol dans différents solvants aliphatiques.

Solvants	γ_∞^2 Å^6
Cyclopentane	159 ± 10
Cyclohexane	156 ± 10
Chloroforme	160 ± 15
Di-méthyle-2,2-butane	157 ± 10
Trans-décaline	155 ± 10
Cis-décaline	164 ± 10
Ether	156 ± 10

TABLEAU N°2 : ANISOTROPIE OPTIQUE DU CHOLESTEROL

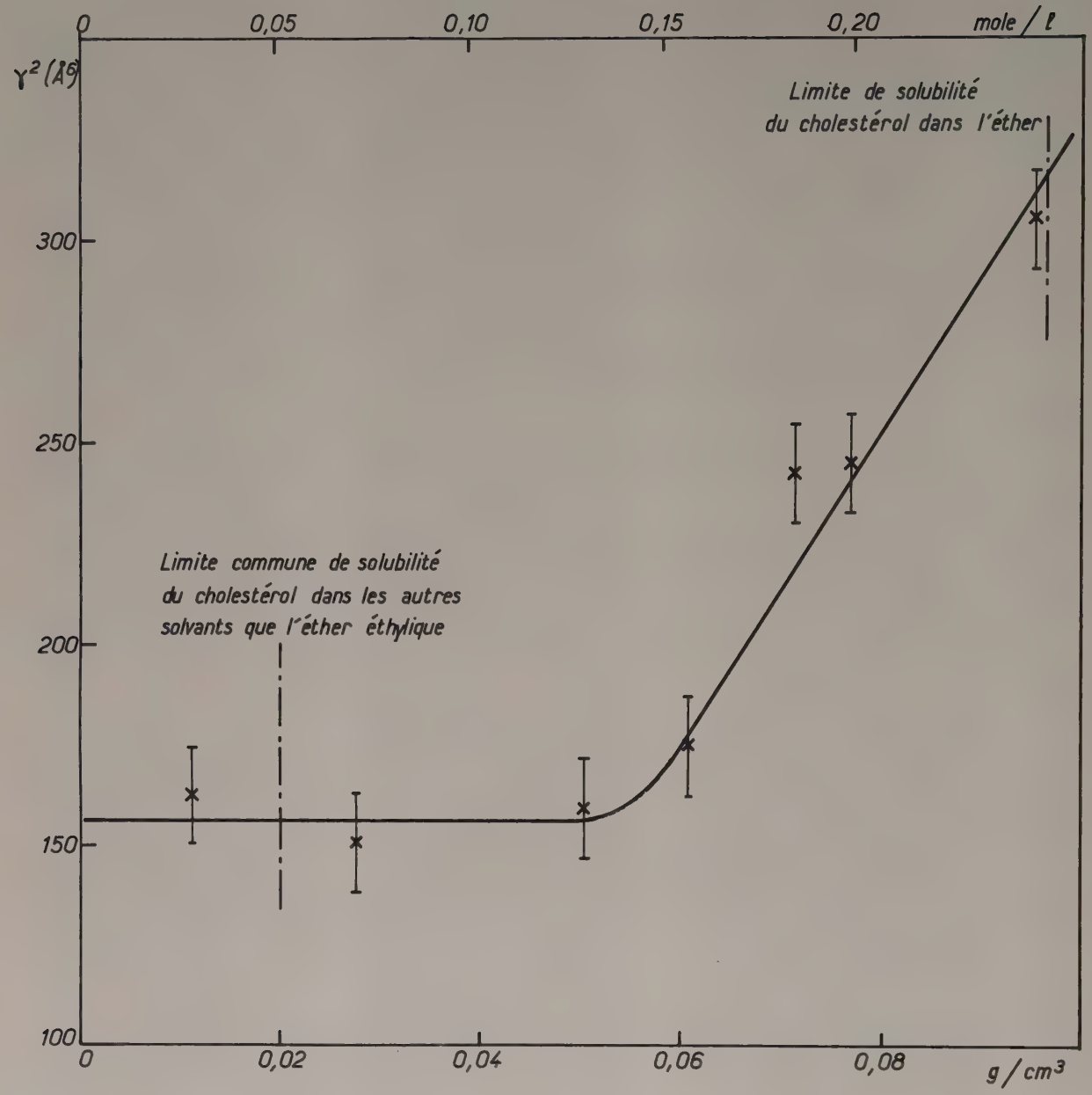

0
0,05
0,10
0,15
0,20
mole / l
γ² (Å⁶)
300
250
200
150
100
Limite de solubilité
du cholestérol dans l'éther
Limite commune de solubilité
du cholestérol dans les autres
solvants que l'éther éthylique
0
0,02
0,04
0,06
0,08
g / cm³

FIGURE 1

L'incertitude expérimentale est de 7 à 10 %, elle est donc légèrement supérieure à celle généralement obtenue (3 %) ; ceci est dû à la très faible solubilité du cholestérol.

L'ensemble de ces résultats conduit à la valeur moyenne :

$$\gamma_\infty^2 = 158 \pm 5 \text{ Å}^6$$

Comme on peut le voir sur ce tableau, l'anisotropie optique moléculaire du cholestérol ne varie pas d'un solvant aliphatique à un autre, constitué de mêmes liaisons chimiques.

La constance de l'anisotropie optique moléculaire du cholestérol dans l'ensemble des solvants étudiés met bien en évidence l'absence de corrélations d'orientation soluté solvant, ce qui n'est pas étonnant à priori, compte tenu de la faible valeur de l'anisotropie optique de ces solvants |28|.

Parmi l'ensemble de ces solvants, l'un deux : l'éther diéthylique est plus particulièrement intéressant car en moyenne la solubilité du cholestérol y est 5 fois plus importante que dans les autres. C'est la raison pour laquelle nous avons étudié le cholestérol dans ce solvant à des concentrations beaucoup plus élevées.

Cependant il faut préciser que les mesures effectuées dans ce solvant sont délicates du fait de sa forte volatilité. Nous avons mis au point une méthode de travail limitant les évaporations et donc les variations de concentrations des solutions filtrées. Pour ce faire, nous avons travaillé en boîte à gants hermétique saturée en vapeurs d'éther et placée dans une pièce thermostatée à une température inférieure à 5°C.

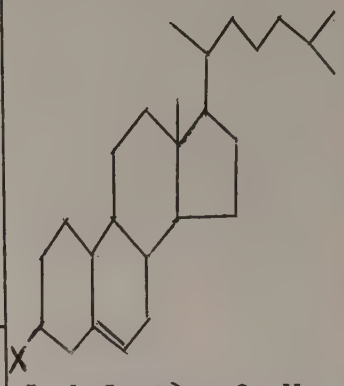
Comme on peut le voir sur la figure n°1 représentant $\gamma^2 = f(C)$, l'anisotropie optique du cholestérol est constante et égale à 156 ± 10 Å^6 jusqu'à une concentration de l'ordre de 0,15 mole/l ; au-delà de cette valeur limite, l'anisotropie optique croît régulièrement avec la concentration.

On peut remarquer que cette valeur de 156 ± 10 Å^6 déterminée en solution diluée est identique, à l'erreur expérimentale près, à celle déterminée dans les solvants de nature différente : 158 ± 5 Å^6.

2 - Les dérivés substitués en position 3β du cholestérol

Le tableau n°3 présente les valeurs de l'anisotropie optique du cholestérol et de ses dérivés, déterminées en solution cyclohexanique.

COMPOSES	γ_∞^2 Å^6
5-cholestène	151 ± 8
5-cholestène-3β ol ou CHOLESTEROL	158 ± 5
5-cholestène-3β méthoxy	165 ± 16
5-cholestène-3 one	130 ± 10
5-cholestène-3β Cl	140 ± 7
5-cholestène-3β Br	186 ± 16
5-cholestène-3β I	252 ± 20



5-cholestène-3β X

TABLEAU N°3

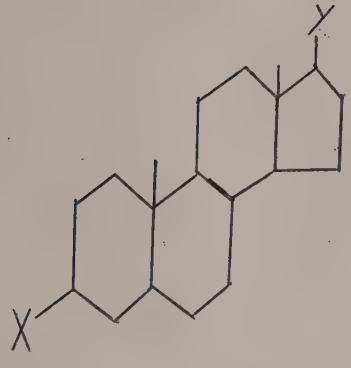
Anisotropie optique de quelques dérivés du cholestérol

3 - Autres stéroïdes

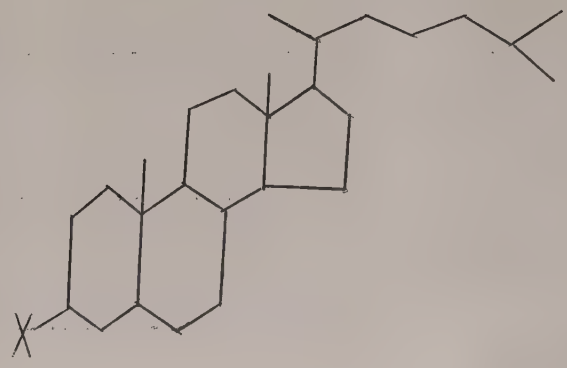
Les tableaux n°4 et n°5 présentent respectivement les valeurs de l'anisotropie optique des dérivés du 5α-androstane et du 5α-cholestane, déterminées en solution cyclohexanique.

COMPOSES	γ_∞^2 Å^6	COMPOSES	γ_∞^2 Å^6	COMPOSES	γ_∞^2 Å^6
5α-androstane	31 ± 3	5α-androstane -3β ol	60 ± 8	5α-androstane -3β ol,17one	58 ± 10
		5α-androstane -3 one	52 ± 5		
		5α-androstane -17β ol	65 ± 15	5α-androstane -3 one,17β ol	48 ± 6
		5α-androstane -17 one	63 ± 8	5α-androstane -3,17 dione	50 ± 8

TABLEAU N°4 : Anisotropie optique de quelques dérivés substitués en 3 β et 17β du 5α-androstane.



5α-androstane-3βX, 17βY



5α-cholestane-3βX

COMPOSES	γ_{∞}^{2} $\mathring{A}^{6}$
5α-cholestane	105 ± 7
5α-cholestane-3β ol	113 ± 7
5α-cholestane-3 one	75 ± 8
5α-cholestane-3β Cl	86 ± 8

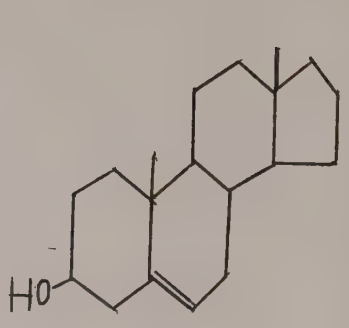
TABLEAU N°5

Anisotropies optiques de quelques dérivés du 5α-cholestane, déterminées en solution cyclohexanique.

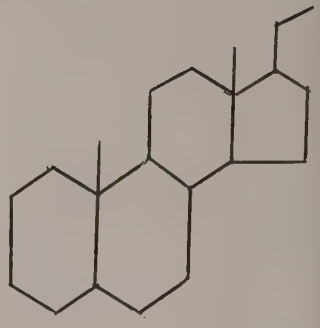
De plus, les anisotropies optiques du 5-androstène-3β ol et du 5α-pregnane : tableau n°6, sont :

COMPOSES	γ_{∞}^{2} $\mathring{A}^{6}$
5-androstène-3β ol	110 ± 8
5α-pregnane	42 ± 4

TABLEAU N°6



5-androstène-3β ol



5α-pregnane

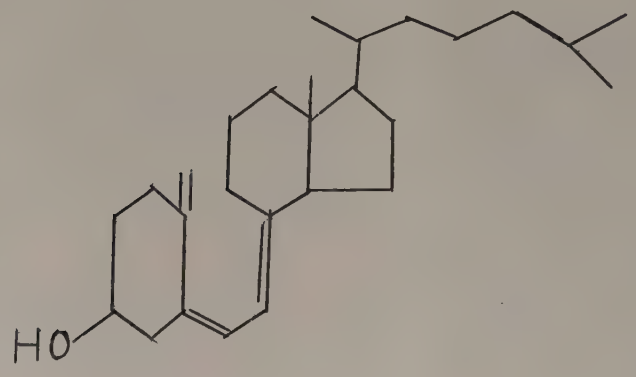
4 - Anisotropie optique de quelques stéroïdes en solution dans les alcanes normaux

Afin d'examiner le comportement des stéroïdes face à des chaînes hydrocarbonées, nous en avons déterminé l'anisotropie optique en solution dans des alcanes normaux. Ces valeurs sont présentées dans le tableau n°7, ainsi que celles déterminées en solution cyclohexanique afin de pouvoir les comparer aux premières.

Composés \ Solvants		cyclohexane	nC_8H_{18}	$nC_{10}H_{22}$	$nC_{12}H_{26}$	$nC_{14}H_{30}$	$nC_{16}H_{34}$
Stéroïdes dérivés du cholestérol	5α-androstane	31 ± 4	62 ± 6	65 ± 6	65 ± 6	66 ± 6	-
	5α-cholestane	105 ± 8	115 ± 8	128 ± 10	150 ± 10	164 ± 10	-
	5α-cholestane-3β ol	113 ± 10	119 ± 10	-	162 ± 15	185 ± 10	166 ± 10
	5α-cholestane-3 one	75 ± 10	105 ± 10	110 ± 10	134 ± 10	-	155 ± 10
	5-cholestène-3 one	130 ± 10	170 ± 10	180 ± 15	-	220 ± 15	215 ± 15
	5-cholestène-3β Cl	140 ± 10	175 ± 7	184 ± 15	-	277 ± 10	310 ± 10
	5-cholestène-3β ol ou CHOLESTEROL	158 ± 5	215 ± 10	$nC_{11}H_{24}$ 272 ± 15		317 ± 12	374 ± 20
Cycle B ouvert	Vitamine D_3 ou cholcalciférol	370 ± 30	380 ± 30	395 ± 40	422 ± 40	-	470 ± 40

TABLEAU N°7 : Anisotropies optiques de quelques composés en solution dans le cyclohexane et les alcanes normaux exprimées en $\mathring{A}^6$.

La vitamine D_3 n'est pas un stéroïde, mais elle possède une structure voisine comme le montre sa formule. C'est un dérivé du cholestérol.



|35|

Avant de comparer ces résultats expérimentaux aux valeurs calculées, nous présenterons le calcul de l'anisotropie optique moléculaire dans la troisième partie de ce travail.

TROISIÈME PARTIE

CALCUL DE L'ANISOTROPIE OPTIQUE MOLECULAIRE

A - CALCUL DIRECT DE L'ANISOTROPIE OPTIQUE MOLECULAIRE

Ce calcul utilise la théorie de la valence optique qui consiste à attacher un ellipsoïde de polarisabilité à chaque liaison chimique d'une molécule |36| |37|.

On montre que l'anisotropie optique γ^2 d'une molécule est une fonction des anisotropies optiques γ_i des liaisons qui la composent :

$$\gamma^2 = \frac{1}{2}\left\{\left[\sum_i \gamma_i \left(\beta^2_{x_i X} - \beta^2_{x_i Y}\right)\right]^2 + \left[\sum_i \gamma_i \left(\beta^2_{x_i Y} - \beta^2_{x_i Z}\right)\right]^2 + \left[\sum_i \gamma_i \left(\beta^2_{x_i Z} - \beta^2_{x_i Y}\right)\right]^2\right\}$$

$$+ 3\left[\left(\sum_i \gamma_i \beta_{x_i X} \beta_{x_i Y}\right)^2 + \left(\sum_i \gamma_i \beta_{x_i Y} \beta_{x_i Z}\right)^2 + \left(\sum_i \gamma_i \beta_{x_i Z} \beta_{x_i X}\right)^2\right]$$

formule valable uniquement dans le cas de liaisons possédant toutes la symétrie de révolution. $\beta_{x_i X}$ est l'un des termes de la matrice des cosinus directeurs de la liaison i, référée au trièdre O X Y Z quelconque.

Cette méthode a été utilisée avec succès lors de l'analyse conformationnelle d'un grand nombre de composés tels que les alcanes normaux, les alcanes normaux substitués, les molécules aromatiques |28| |37| |38| |39|, les molécules cycliques |30| etc..., mais comme on a pu le faire remarquer à plusieurs reprises, cette méthode implique que l'anisotropie optique d'une même liaison chimique se trouvant au sein de molécules globalement différentes y soit constante. Cette condition est la plupart du temps vérifiée si le proche environnement de la liaison y est identique : c'est ce que l'on a appelé analogie locale de conformation.

B - CALCUL A L'AIDE DU MODELE D'INTERACTIONS ELECTROSTATIQUES

I - Principe

Le calcul précédent n'est plus valable dans le cas de liaisons trop proches. En effet le calcul direct suppose que seul le champ extérieur de l'onde incidente E agit sur chaque dipole constituant les liaisons. En réalité si les

liaisons sont trop rapprochées les unes des autres (liaisons vicinales au sein d'une molécule, c'est-à-dire séparées par une seule autre liaison, liaisons éloignées mais qui peuvent se rapprocher au cours des mouvements moléculaires dus à l'isomérie de rotation), l'analogie locale de conformation n'est plus respectée. Le champ créé sur une liaison donnée peut être perturbé par les différents champs créés par les dipoles induits dans les autres liaisons. Les valeurs de γ^2 calculées sans tenir compte de ces champs supplémentaires sont très différentes des valeurs expérimentales |38| , comme le montre le tableau n°8.

	γ^2 Å^6 calculé méthode directe	γ^2 Å^6 expérimental
Cyclohexane	3,0	2,0
Trans-décaline	10,8	7,0
Cis-décaline	2,8	3,7

Tableau n°8

CANTACUZENE a montré que l'intéraction électrostatique entre liaisons chimiques permet de rendre compte d'écarts à la loi d'additivité observée lors de l'étude de la réfraction moléculaire (ou polarisabilité optique moléculaire moyenne) et du moment dipolaire de composés organiques. Utilisant un modèle stylisé qui ne tient compte que des polarisabilités longitudinales des liaisons, il a démontré que la polarité et la polarisabilité de chacune des liaisons appartenant à un couple de liaisons en interaction varient avec la distance et l'orientation relative de ces liaisons |39|.

CARISTAN et BOTHOREL ont généralisé l'étude faite par CANTACUZENE dans le but de l'appliquer au calcul de l'anisotropie optique des liaisons chimiques en tenant compte des polarisabilités optiques longitudinales et transversales de chaque liaison, |40|, c'est-à-dire de l'anisotropie optique de la liaison.

Au cours de son travail de thèse, FOULANI a appliqué cette méthode de calcul aux dérivés alicycliques ; dans tous ces composés il a noté l'accord entre les valeurs ainsi calculées et les valeurs expérimentales |30|, |41|, |42|.

Le calcul de γ^2 par cette méthode utilise la polarisabilité optique apparente d'une liaison i perturbée par le dipole de la liaison j :

$$\left|\alpha_i^*\right| = \left|\alpha_i\right| + \sum_i \left|\alpha_i\right| \left|T_i^j\right| \left|\alpha_j\right|$$

formule dans laquelle T_i^j est la matrice d'orientation réciproque des 2 liaisons i et j :

$$T = \begin{vmatrix} \frac{3x^2 - r^2}{r^5} & \frac{3xy}{r^5} & \frac{3xz}{r^5} \\ \frac{3xy}{r^5} & \frac{3y^2 - r^2}{r^5} & \frac{3yz}{r^5} \\ \frac{3xz}{r^5} & \frac{3yz}{r^5} & \frac{3z^2 - r^2}{r^5} \end{vmatrix}$$

x, y et z sont les composantes du vecteur $\vec{r}$ allant du dipole perturbateur au centre du dipole perturbé.

II - Programme de calcul

En collaboration avec J.BELLE (*) nous avons élaboré puis testé un programme permettant le calcul de l'anisotropie optique de toutes les molécules étudiées. Ce programme est utilisable avec l'ordinateur P.D.P. 8 du C.R.P.P. et procède de la façon suivante.

(*) Nous tenons ici à remercier J. BELLE pour sa collaboration et ses judicieux conseils lors de ces travaux.

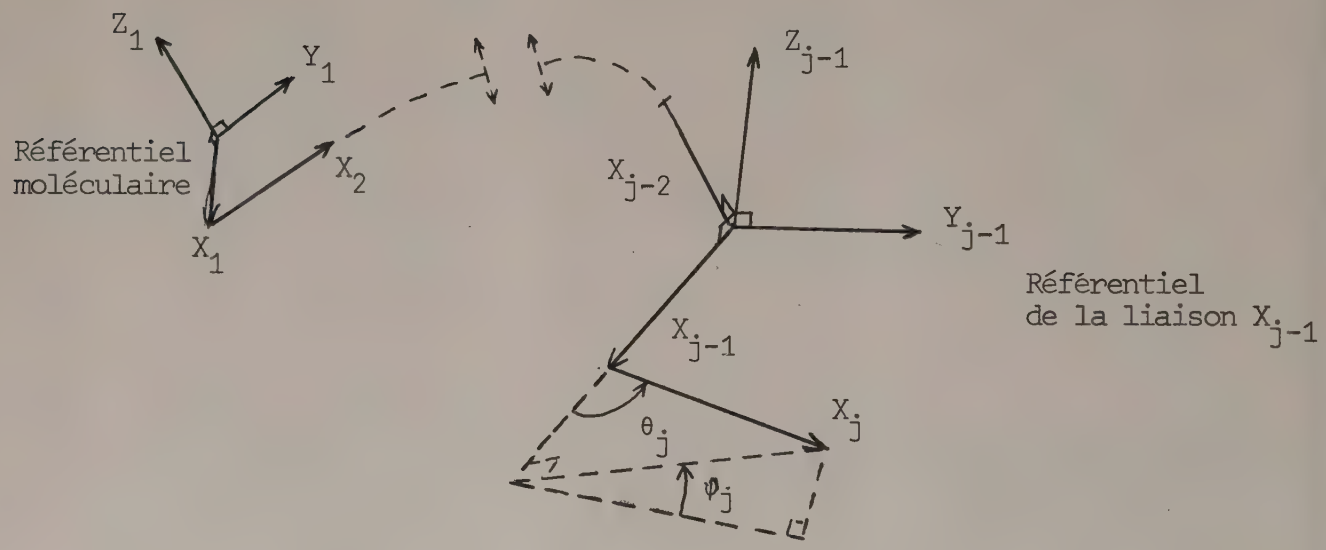
Soit K_j la matrice de passage du référentiel associé à la liaison j à celui associé à la liaison j-1 et P_{j-1} la matrice de passage du référentiel associé à la liaison j-1 au référentiel moléculaire.

La matrice de passage P_j de la liaison j au référentiel moléculaire est définie par la formule de récurrence : $P_j = P_{j-1} K_j$

Le tenseur de polarisabilité, α_j dans le référentiel j s'exprime dans le référentiel moléculaire par A_j ; $A_j = P_j \alpha_j {}^tP_j$

${}^tP_j$ est la matrice transposée de P_j

Sur le schéma suivant sont représentés les paramètres géométriques permettant de repérer la liaison j par rapport au trièdre j-1.



X_1 et X_2 sont portés sur les deux premières liaisons de la séquence qui décrit la molécule. Le référentiel moléculaire (X_1 Y_1 Z_1) est tel que Z_1 est perpendiculaire au plan (X_1, X_2)et Y_1 est perpendiculaire au plan (X_1Z_1).

Le trièdre associé à la liaison j est défini par :

- X_j sur l'axe de la liaison j
- Z_j défini par le produit vectoriel $\vec{X}_j \wedge \vec{X}_{j-1}$
- Y_j complète le trièdre rectangle direct et normé

Les coordonnées qui repèrent la liaison X_j par rapport au référentiel précédent j-1 sont :

- θ_j supplément de l'angle de valence entre les liaisons j et j-1
- ψ_j angle dièdre des plans (X_j, X_{j-1}) et (X_{j-1}, X_{j-2}).

L'angle ψ_j est l'angle dont il faut faire tourner la liaison j pour l'amener en position trans par rapport à la liaison j-2 ; il est négatif lorsque le sens de rotation est le sens trigonométrique, quand on regarde dans le sens inverse du vecteur X_{j-1}.

Dans ces conditions, la matrice de passage du référentiel j-1 au référentiel j est :

$$K_j = \begin{pmatrix} \cos\theta & \sin\theta & 0 \\ \sin\theta\cos\psi & -\cos\theta\cos\psi & \sin\psi \\ \sin\theta\sin\psi & -\sin\psi\cos\theta & -\cos\psi \end{pmatrix}$$

Ce programme ainsi élaboré permet le calcul de l'anisotropie optique d'une molécule dans toutes ses conformations possibles et en y faisant varier les paramètres géométriques.

Il permet également le calcul de l'anisotropie optique de la molécule en tenant compte des intéractions électrostatiques entre liaisons chimiques.

Enfin, il permet le calcul de l'anisotropie optique de composés chimiques possédant un très grand nombre de liaisons, puisque ce calcul se fait par récurrence ; la seule limitation n'est pas due au programme mais à la capacité de l'ordinateur.

Ce programme a été testé sur des molécules simples pour lesquelles on peut effectuer le calcul de l'anisotropie optique sans l'aide de l'ordinateur (alcanes à faible nombre d'atomes de carbone). Pour les molécules plus importantes cholestérol, par exemple, il a été testé en comparant ses résultats avec ceux fournis par un autre programme établi par MARAVAL et utilisable sur ordinateur IBM 360. Notre programme écrit en langage "assembleur" et "Fortran", diffère de celui de MARAVAL, écrit uniquement en "Fortran". L'accord entre les valeurs obtenues est bon ; en effet, à l'aide du premier programme l'anisotropie optique du cholestérol est de 32,55 $\mathring{A}^6$, elle est de 32,05 $\mathring{A}^6$ avec le second.

QUATRIÈME PARTIE

COMPARAISON DES RESULTATS EXPERIMENTAUX AUX VALEURS CALCULEES DE L'ANISOTROPIE OPTIQUE-DISCUSSION

A - CYCLES SATURES NON SUBSTITUES

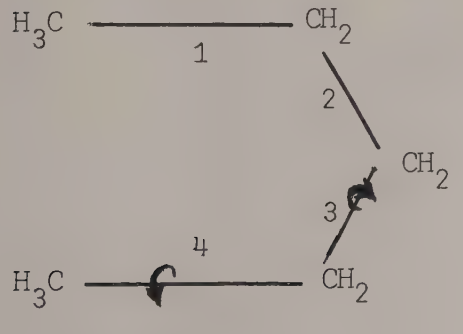
I - Problème posé par le choix des liaisons en interaction lors de l'application du modèle d'intéractions électrostatiques

La valeur de base dite "non perturbée" de l'anisotropie optique d'une liaison carbone-carbone : 1,31 $\mathring{A}^3$ est une valeur provenant des mesures de l'anisotropie optique des alcanes normaux |43|. Cette valeur de l'anisotropie optique de liaison rend compte des anisotropies optiques de tous les alcanes normaux dans les conformations probables des chaînes, c'est donc une valeur moyenne qui est relative à une liaison carbone-carbone entourée d'autres liaisons carbone-carbone et carbone-hydrogène la perturbant par leurs dipôles induits. Faute de mieux, c'est cette valeur que nous utiliserons dans la suite des calculs en la supposant non perturbée par de nouvelles liaisons. Le problème est alors le suivant : par rapport à celles présentes dans les alcanes normaux, de quelles interactions supplémentaires faut-il tenir compte lors du calcul de l'anisotropie optique γ_i^* d'une liaison présente dans un composé ne présentant pas toutes les conformations de l'alcane normal ?

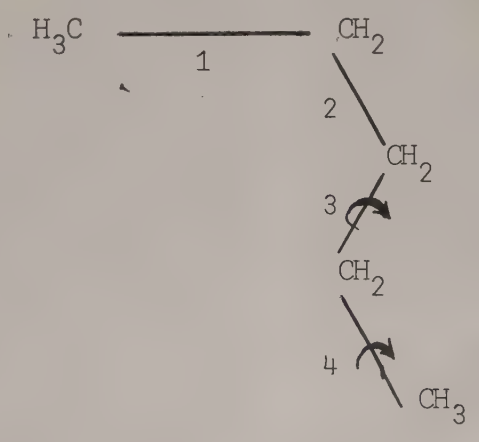
Une étude critique approfondie du problème nous a conduit au choix que nous allons résumer ci-dessous.

Dans un alcane normal, deux rotations de la chaîne en sens contraires et concernant deux liaisons carbone-carbone successives sont très peu probables |44|, comme le montrent les schémas (1) et (2).

En effet, il y aurait alors interpénétration des sphères de VAN-DER-WAALS des groupements ; cette situation est représentée dans le schéma (1)



(1) Conformation peu probable



(2) Conformation probable

La conformation (1) est très peu probable dans les alcanes normaux, c'est pourquoi lorsque CLEMENT a calculé l'anisotropie optique moyenne d'une liaison carbone-carbone, il a éliminé les conformations de ce type |44|. La valeur moyenne de base γ_{C-C} = 1,31 $\mathring{A}^3$ ne tient donc pas compte de telles conformations. Cependant la géométrie de ces conformations est présente dans les composés cycliques tels que le cyclohexane ou les trans et cis-décalines, elle est imposée par l'existence du cycle ; nous considèrerons donc en première analyse que les liaisons voisines sont perturbées par la liaison 4 dans la conformation (1), appelées position cissoïde par Cantacuzène : 4 → 1 |38| |39|. C'est donc d'interactions de ce type que nous tiendrons compte dans le calcul.

II - Comparaison des résultats

Les interactions électrostatiques entre liaisons situées en position relative 1 et 4 transsoïdes et cissoïdes |39| (comme sur le schéma (1)) ont été prises en considération dans le calcul de composés polycycliques étendus et conduisent aux anisotropies optiques moléculaires présentées dans le tableau n° 9 : $\gamma^2_{\text{calc. avec inter.}}$. Comme c'est la conformation "chaise" des cycles qui est la plus probable |30|, c'est suivant cette géométrie que nous avons calculé les anisotropies optiques des composés cycliques.

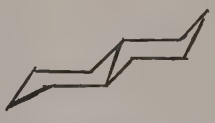
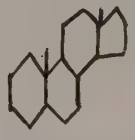
Composés	cyclohexane	 trans-décaline (*)	trans-hydrindane (**)	Perhydrophénanthrène (***)	 5α-androstane
$\gamma^2_{exp.}$ $\mathring{A}^6$	1,98	7,0 ± 0,2	6,0 ± 0,2	14,3 ± 0,3	31 ± 3
γ^2_{calc} $\mathring{A}^6$ avec inter.	1,82	6,87	5,80	14,1	30,0
γ^2_{calc} $\mathring{A}^6$ sans inter.	3,02	10,89	9,28	22,1	19,7

TABLEAU N° 9

* La trans-décaline est analogue aux cycles A et B en jonction trans des stéroïdes, c'est-à-dire des 5α-stéroïdes.

** Le trans-hydrindane est analogue aux cycles C et D des stéroïdes.

*** Le perhydro-phénanthrène est analogue aux cycles A, B et C des 5α-stéroïdes.

Nous avons également porté sur ce tableau n° 9 à titre indicatif les valeurs de γ^2 calculées sans interactions électrostatiques. Comme nous le savons déjà ces résultats nous montrent que la méthode directe est insuffisante quel que soit le cycle. Par contre, le modèle d'interactions électrostatiques rend parfaitement compte de l'anisotropie optique de tels composés cycliques.

Notons particulièrement qu'il rend compte de l'anisotropie optique du cyclopentano-perhydrophénanthrène (ici dans le 5α- androstane) qui est commun à certains des stéroïdes étudiés.

B - LE 5α-CHOLESTANE ET LE CHOLESTEROL

I - Comparaison des anisotropies optiques expérimentales et calculées

Le tableau n° 10 présente les valeurs des anisotropies optiques de ces deux molécules (*).

Rappelons que les valeurs de γ^2 sont calculées à partir de $\gamma_{C-C} = 1{,}31$ Å^3.

Composés	γ^2_{calc} Å^6 sans inter.	γ^2_{calc} Å^6 avec inter.	γ^2_{exp} Å^6 moyen
5α-cholestane	31	50	105 ± 6
Cholestérol	54	71	158 ± 5

TABLEAU N° 10

Anisotropies optiques du 5α-cholestane et du cholestérol

(*) Remarque
Dans ce calcul, comme dans tous ceux où des isomères de rotation sont présents, nous avons tenu compte des conformations les plus probables et nous en avons pondéré les valeurs d'anisotropie optique.

Comme nous nous y attendions, les valeurs calculées sans le modèle d'interactions électrostatiques sont très différentes des valeurs expérimentales.

Par ailleurs, contrairement à ce que nous avons obtenu pour le 5α-androstane, les valeurs de γ^2 calculées à l'aide de ce modèle sont elles aussi différentes des valeurs expérimentales.

Avant d'envisager une étude plus approfondie de cet écart, il nous a paru intéressant de voir comment il se traduit au niveau des liaisons carbone-carbone.

II - Calcul de l'anisotropie optique des liaisons déduit des valeurs des anisotropies optiques moléculaires expérimentales.

Nous avons porté dans le tableau n° 11 les valeurs des anisotropies optiques des liaisons carbone-carbone de quelques composés cycliques qui rendent compte des anisotropies optiques moléculaires expérimentales au moyen du calcul direct (qui ne fait pas intervenir les interactions électrostatiques) (3ème partie A).

Composés	γ_{C-C} $\AA^3$
Alcanes normaux	1,31
cyclohexane trans-décaline trans-hydrindane perhydrophénanthrène	1,14
5α-androstane	1,55
5α-cholestane cholestérol	2,25

TABLEAU N° 11

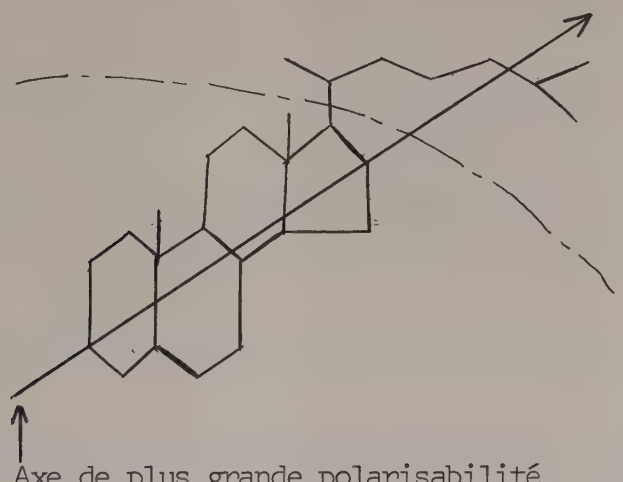
Anisotropies optiques des liaisons carbone-carbone rendant compte des anisotropies optiques moléculaires expérimentales par calcul direct.

Par rapport à la valeur de référence γ_{C-C} = 1,31 $\mathring{A}^3$, déterminée directement dans les alcanes normaux, les valeurs de γ_{C-C} se classent en deux groupes. Le premier comprend des molécules pour lesquelles γ_{C-C} est inférieur à 1,31 $\mathring{A}^3$, ce sont des molécules polycycliques relativement simples, le nombre de cycles étant égal à 3 au maximum. Le second groupe comprend les molécules ayant toutes en commun le noyau cyclopentano-perhydrophénanthrènique et dont les valeurs de γ_{C-C} sont plus élevées que 1,31 $\mathring{A}^3$.

Ces valeurs sont en effet très élevées si on les compare par exemple à l'anisotropie optique de la liaison C-Cl : γ_{C-Cl} = 2,45 $\mathring{A}^3$ |44|, qui est une liaison bien plus anisotrope. Notons toutefois que dans le β-pinène, la valeur de γ_{C-C} est γ_{C-C} = 1,65 $\mathring{A}^3$.

REMARQUES

On peut considérer le 5α-cholestane formé de deux parties comme on peut le voir sur le schéma suivant : une première partie composée de 4 cycles aliphatiques saturés : le 5α-androstane et une partie acyclique : l'isooctane.



Axe de plus grande polarisabilité

Nous pouvons donc calculer l'anisotropie optique du 5α-cholestane non pas en utilisant une valeur unique de γ_{C-C} quelle que soit la liaison considérée mais en attribuant aux liaisons C-C cycliques la valeur 1,55 $\mathring{A}^3$ issue du 5α-androstane et aux liaisons C-C aliphatiques la valeur 1,31 $\mathring{A}^3$ relative à la chaîne isooctanique. L'anisotropie optique calculée à l'aide de la seule théorie de la valence optique et pondérée suivant les conformations probables est alors de 45 $\mathring{A}^6$, bien inférieure à la valeur expérimentale : 106 $\mathring{A}^6$. Il est bien évident que l'utilisation des valeurs de γ_{C-C} = 1,55 $\mathring{A}^3$ cycliques et 1,31 $\mathring{A}^3$ aliphatiques, ne peut conduire à la valeur moyenne 2,25 $\mathring{A}^3$.

Le même calcul a été effectué aussi dans le cas du cholestérol et conduit aux mêmes conclusions.

Ainsi, quel que soit le type de calcul envisagé, méthode directe ou modèle d'interactions électrostatiques, il n'est pas possible de rendre compte de l'anisotropie optique expérimentale. Ces types de calcul faisant appel à des modèles simples deviennent insuffisants. Toutefois, comme nous venons de le voir, les valeurs expérimentales ne peuvent être expliquées que par des valeurs anormalement élevées des anisotropies optiques des liaisons.

C'est l'origine possible de cette exaltation que nous allons tenter de mettre en évidence maintenant.

III - Etude critique de l'écart théorie-expérience

A priori, la forte exaltation de l'anisotropie optique expérimentale du cholestérol par rapport à la valeur calculée peut être due à des causes d'origines différentes.

1 - Existence d'une conformation particulière de la chaîne isooctanique du stéroïde en solution.

2 - Existence d'un dimère (ou polymère) dont la formation serait due :

a) aux liaisons par pont hydrogène entre la fonction hydroxyle des diverses molécules de cholestérol

b) aux interactions orientées par forces de dispersion entre les diverses molécules.

Ce sont ces diverses hypothèses que nous allons envisager maintenant.

1) Etude de la conformation de la chaîne aliphatique du cholestérol

Comme nous l'avons montré dans le rappel relatif à la structure des stéroïdes, les cycles ont une conformation bien définie et rigide ; le 5α-androstane est formé de 3 cycles cyclohexaniques "chaises" à jonction trans et d'un cycle cyclopentanique fixé à l'ensemble des 3 autres par une jonction également trans ; l'ensemble est suffisamment rigide et ne présente pas d'isomères d'interconversion des cycles.

Le cholestérol est constitué du même noyau cyclopentano-perhydrophénanthrènique mais peut présenter des isomères de rotation dus aux diverses conformations que peut prendre la chaîne isooctanique située en position 17.

L'anisotropie optique du cholestérol est donc la moyenne pondérée des anisotropies optiques de chacune des conformations énergétiquement permises.

Si on considère que l'angle dièdre formé par les 2 premières liaisons de la chaîne avec les liaisons des cycles est fixe (ceci est justifié par l'encombrement stérique dû à la présence de 2 groupements méthyles en 18 et 21) |45|, seuls 4 angles dièdres peuvent varier, il y a donc $3^4 = 81$ conformations possibles de la chaîne.

Mais dans un alcane, deux rotations de la chaîne dans des sens contraires concernant deux liaisons carbone-carbone ne sont que très peu probables, il y aurait interpénétration des sphères de VAN DE WAALS (nous avions déjà fait cette remarque dans le chapitre relatif aux interactions électrostatiques entre liaisons |46|). Si l'on élimine ces conformations peu probables, sur 81 possibles, il ne reste que 14 conformations probables. Nous avons calculé l'anisotropie optique de chacune de ces 14 conformations puis les résultats ont été pondérés statistiquement selon la méthode décrite par CLEMENT |44|. Dans ces conditions, l'anisotropie optique moléculaire du cholestérol s'exprime par la relation :

$$\gamma^2 = \frac{\sum_{i=1}^{i=2} \gamma_i^2 + \left(\sum_{i=3}^{i=9} \gamma_i^2\right) e^{-\frac{\Delta E}{RT}} + \left(\sum_{i=10}^{i=14} \gamma_i^2\right) e^{-\frac{2\Delta E}{RT}}}{2 + 7\, e^{-\frac{\Delta E}{RT}} + 5\, e^{-\frac{2\,\Delta E}{RT}}}$$

où γ_i^2 est l'anisotropie optique du cholestérol pour la conformation i de la chaîne aliphatique.

Toutes les anisotropies optiques des dérivés du cholestérol ou du 5α-cholestane ont été calculées en utilisant la différence d'énergie de rotation :

$$\Delta E = 600 \text{ cal déterminée par ailleurs } |43|.$$

Parmi toutes les conformations de la chaîne aliphatique isooctanique, on sait déjà que c'est la conformation entièrement trans qui est la plus anisotrope |43|, or le cholestérol cristallisé |47| se présente avec la chaîne isooctanique entièrement trans, on pourrait donc penser que c'est cette conformation particulière de la chaîne qui reste présente en solution.

Comme nous pouvons le constater à l'aide du tableau n° 11, les valeurs de l'anisotropie optique calculée sont encore bien éloignées de la valeur expérimentale : 158 ± 5 $Å^6$.

γ_1^2	γ_2^2	γ_3^2	γ_4^2	γ_5^2	γ_6^2	γ_7^2	γ_8^2	γ_9^2	γ_{10}^2	γ_{11}^2	γ_{12}^2	γ_{13}^2	γ_{14}^2
86	72	69	52	78	60	78	42	80	80	57	63	79	58

TABLEAU N° 12 : γ_i^2 : anisotropie optique moléculaire de la molécule de cholestérol de conformation i.

Donc, la conformation de la chaîne isooctanique, même si la plus anisotrope existait seule en solution, ne serait pas suffisante pour expliquer l'exaltation de l'anisotropie optique mesurée par rapport à la valeur calculée. Dans ces conditions, nous continuerons à supposer par la suite que la valeur de l'anisotropie optique du cholestérol est le résultat d'une pondération des anisotropies des différentes conformations.

2) Mise en évidence de l'état monomère du cholestérol en solution très diluée

Nous savons par ailleurs que lorsque des molécules sont associées de telle façon que leurs plus grands axes de polarisabilité soient parallèles, l'anisotropie optique de l'ensemble est augmentée ; c'est l'inverse qui se produit lorsque ces axes sont perpendiculaires |48|.

Deux types d'associations peuvent conduire à ce type d'interaction :

- association par pont hydrogène
- association orientée par forces de dispersion.

a) Association par pont hydrogène

La forte valeur de l'anisotropie optique mesurée pourrait provenir de l'existence d'un composé dimère formé par liaisons par pont hydrogène entre les fonctions hydroxyles des diverses molécules de cholestérol.

α) Spectroscopie infrarouge

Nous avons observé que par spectroscopie infrarouge, la bande liée OH...H se situant à 3490 cm^{-1} est de faible intensité pour les concentrations inférieures à 0,05 mole/l de cholestérol en solution dans le tétrachlorure de carbone ; ce résultat est confirmé par une étude faite par ailleurs |49|. Son intensité est si faible que nous avons pu conclure à l'absence de liaison OH...H.

Nous n'avons pas pu étudier cette bande de vibration dans les autres solvants aliphatiques car ils absorbent beaucoup trop dans cette région du spectre. Mais remarquons toutefois, que même si elle est relativement moins importante dans le tétrachlorure de carbone (γ^2_{exp} = 129 $Å^6$), l'exaltation d'anisotropie optique expérimentale par rapport à la valeur calculée est toujours très grande. (129 contre 71 $Å^6$ calculé).

β)Anisotropie optique du 5-cholestène-3β méthoxy

β1) Nous avons choisi ce composé car il ne peut pas présenter de liaison par pont hydrogène.

β2) A priori, le cholestérol et son dérivé méthoxylé doivent avoir des anisotropies optiques voisines puisqu'ils ne diffèrent que par la substitution d'un atome d'hydrogène par le radical CH_3, peu anisotrope par lui-même.

β3) Le calcul théorique de l'anisotropie optique du cholestérol n'étant pas en accord avec l'expérience, on ne peut pas l'espérer pour le dérivé méthoxylé. Cependant, il est possible de vérifier l'hypothèse précédente en choisissant une anisotropie optique de liaison γ_{C-C}, qui donne l'accord entre les valeurs de γ^2 calc et γ^2exp du cholestérol par la méthode directe (γ_{C-C} = 2,25 $Å^3$). Ne connaissant pas l'angle φ que font les liaisons O-H et O-CH_3 par rapport au plateau cyclopentano-perhydrophénanthrénique, nous constatons que, quelle que soit la valeur de l'angle φ, l'écart entre γ^2_{calc} du cholestérol et γ^2 calc du dérivé méthoxylé est faible et inférieur à 10 % ; or, l'écart expérimental est de 6 % donc inférieur à l'écart le plus fort entre les valeurs calculées (fig. 2).

Pratiquement, on peut donc considérer que quelle que soit la position de la liaison O-CH_3, cholestérol et 5-cholestène-3β méthoxy ont la même anisotropie optique calculée.

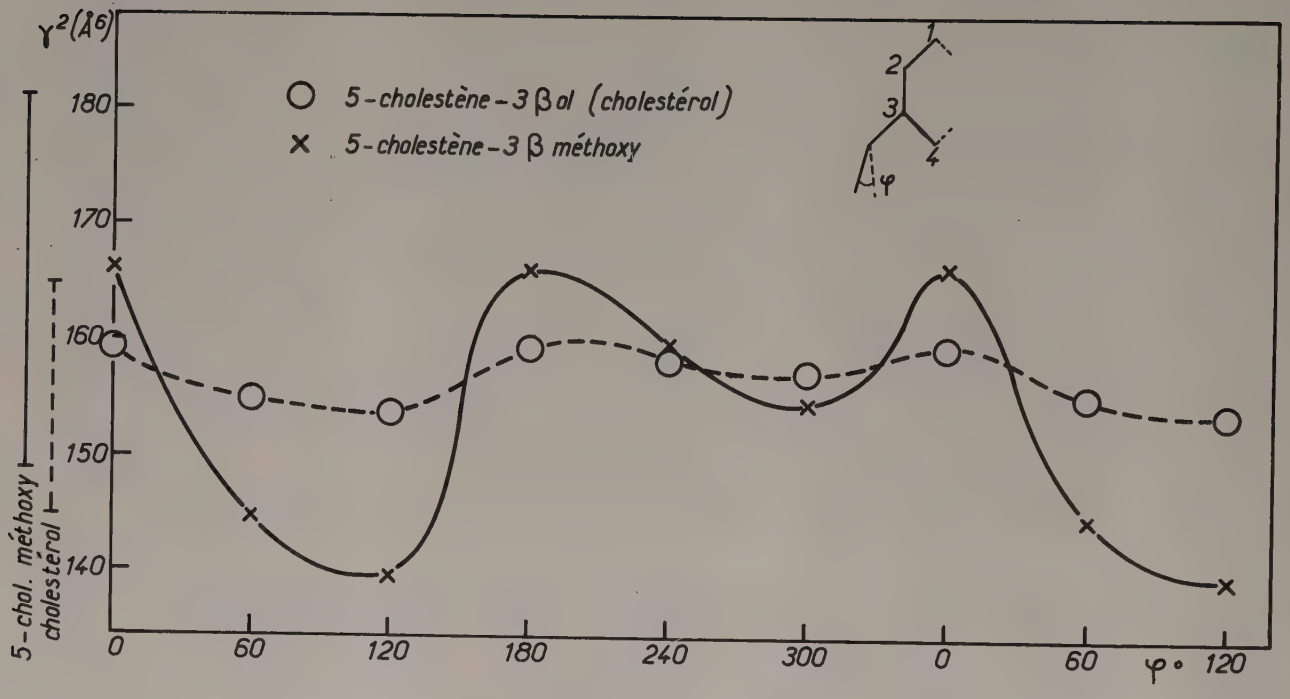

γ²(Å⁶)
180
170
160
150
140
5-chol. méthoxy
cholestérol
5-cholestène-3 β ol (cholestérol)
5-cholestène-3 β méthoxy
1
2
3
4
φ
0
60
120
180
240
300
0
60
φ° 120

FIGURE 2

Si l'on pose par hypothèse qu'il existe des associations par pont hydrogène, ces résultats montrent que l'association ne peut se traduire par l'existence de polymère cyclique car dans ce cas l'anisotropie optique de l'ensemble serait bien plus élevée. Par ailleurs, des travaux antérieurs |42| ont montré que si les molécules ne sont pas fixes l'une par rapport à l'autre bien qu'il existe des liaisons par pont hydrogène, l'anisotropie optique mesurée est celle du monomère.

Dans ces conditions, compte tenu de l'ensemble des résultats de ce chapitre, il nous semble raisonnable de conclure d'une part à l'absence de liaison par pont hydrogène entre les molécules de cholestérol des solutions étudiées et d'autre part, d'admettre que les valeurs mesurées caractérisent bien la molécule à l'état monomère.

Un autre type d'associations peut exister dans ces composés, ce sont les associations par forces de dispersion. Nous allons tenter de mettre en évidence leur présence ou leur absence par une étude en fonction de la concentration.

b) Association par forces de dispersion - Etude des solutions cholestérol-éther éthylique.

Certains travaux effectués au laboratoire ont permis de mettre en évidence des associations orientées par forces de dispersion entre alcanes normaux et entre alcanes normaux et noyaux aromatiques |43||50||51| ; cela se traduit par une exaltation des valeurs d'anisotropie optique lorsqu'en particulier les axes de plus grande polarisabilité des molécules sont parallèles. On peut donc penser que si de telles forces existent entre les alcanes normaux, ces forces peuvent de façon analogue exister entre plateaux cholestériques constitués des mêmes liaisons C-C et C-H |52|.

Pour pouvoir analyser les valeurs de l'anisotropie optique du cholestérol, il faut donc utiliser un solvant dont les caractéristiques sont les suivantes :

1) il ne doit présenter que de faibles interactions orientées

2) il doit être faiblement anisotrope afin que sa contribution à l'intensité diffusée par les solutions ne soit pas trop importante.

3) il doit être un solvant efficace afin de pouvoir étudier la variation de l'anisotropie optique en fonction de la concentration dans un domaine aussi important que possible.

Ce sont les raisons pour lesquelles nous avons choisi l'éther éthylique ; c'est un solvant différent des solvants aliphatiques utilisés jusqu'alors.

Nous avons montré dans la deuxième partie de ce travail que l'anisotropie optique du cholestérol ne varie pas d'un solvant à un autre, ce qui signifie qu'il n'existe pas de corrélations soluté-solvant |53|.

Par contre, la croissance de son anisotropie optique à partir d'une concentration de 0,15 mole/l dans l'éther éthylique peut être attribuée à l'existence de corrélations d'orientation entre les molécules de cholestérol, comme il a été montré par ailleurs avec d'autres composés |53|.

De plus, il est intéressant de remarquer que cette variation d'anisotropie optique apparaît à partir d'une distance moyenne d = 25 Å (*) entre les molécules, distance du même ordre de grandeur que la plus grande dimension de la molécule de cholestérol, la chaîne isooctanique étant supposée en conformation entièrement trans : 21 Å |45| (**)

On retrouve ici un résultat tout à fait analogue à ceux obtenus lors de l'étude des alcanes normaux et des interactions benzène-alcanes normaux |53|.

Lorsque la concentration en cholestérol atteint environ 70 % de la saturation, les molécules sont proches les unes des autres (elles sont donc dans une situation tout à fait favorable à l'existence d'interactions orientées (***)) et l'anisotropie optique de la molécule de cholestérol croît alors avec la concentration. Il nous semble tout à fait justifié d'attribuer cette croissance à une orientation réciproque privilégiée des molécules ou en d'autres termes de dire que ces molécules présentent des corrélations d'orientation.

En résumé, compte tenu de la constance de l'anisotropie optique du cholestérol en solution suffisamment diluée, il nous semble que les forces de dispersion entre les molécules de cholestérol pour les concentrations inférieures à 0,15 mole/l, sont négligeables.

(*) La distance moyenne entre les molécules de cholestérol est calculée en assimilant les molécules à des sphères et en admettant un coefficient de remplissage de s = 0,64 |54|. Dans ces conditions :

$$d_A^\circ = \sqrt[3]{\frac{6}{\pi}}\, s \sqrt[3]{\frac{M}{0{,}602c}}$$

avec M : masse molaire du soluté en g
c : concentration en g/cm^3
0,602 = $10^{-24}\mathcal{N}$ ($\mathcal{N}$: nombre d'Avogadro).

(**) Le calcul de cette distance moyenne est très approché, on assimile le cholestérol à un volume plus compact (une sphère) que ce qu'il est en réalité.

(***) Rappelons que les forces de dispersion qui varient en raison inverse de la puissance 7 de la distance entre les 2 molécules considérées sont très importantes aux faibles distances mais diminuent très rapidement lorsque les molécules

Ainsi, d'une manière générale, il ne semble pas que l'exaltation importante d'anisotropie optique constatée par rapport à la valeur calculée puisse être attribuée à l'existence de dimères du cholestérol, ces dimères étant dûs soit à la formation de liaisons par pont hydrogène entre les groupements polaires, soit à l'existence de forces de dispersion, soit aux deux à la fois. Comme, de plus, nous avons montré que cette exaltation d'anisotropie optique expérimentale ne peut pas provenir d'une conformation particulière du cholestérol en solution, la valeur expérimentale observée se rapporte donc à la molécule monomère.

Nous sommes donc conduits à admettre que la chaîne isooctanique fixée en position 17 β sur les 4 cycles du 5α-androstane qui possède une direction sensiblement parallèle à l'axe de plus grande polarisabilité de la molécule perturbe fortement les anisotropies optiques des liaisons constitutives des cycles.

C - AUTRES STEROIDES

Nous venons de mettre en évidence une exaltation d'anisotropie optique expérimentale par rapport à la valeur calculée dans les cas du 5α-androstane substitué en 17 β seulement (le 5α-cholestane) et du 5α-androstane substitué en 17 β, 3 β et 5-6 (cholestérol).

Nous nous proposons d'examiner si cette exaltation n'apparaît que lorsque l'on substitue le 5α-androstane en position 17β par la chaîne isooctanique, ou si elle apparaît encore lorsque la substitution varie par la nature et la position du substituant.

Dans une première étape, nous examinerons donc successivement les effets possibles des substitutions sur la valeur de l'anisotropie optique du cholestérol :

- substitution en position 17 β
- substitution en position 3 β
- substitution simultanée en 3 et 17 β
- liaison insaturée joignant les atomes de carbone du cycle numérotés 5 et 6.

I - Stéroïdes substitués en position 17 β

Nous avons porté dans le tableau n° 13 les anisotropies optiques expérimentales et calculées suivant le modèle des interactions électrostatiques entre liaisons chimiques, de quelques dérivés substitués en position 17 β du 5α-androstane ainsi que les écarts relatifs δ_i calculés et observés (*).

$$\delta_i = \frac{\gamma^2_{\text{composé étudié}} - \gamma^2_{\text{composé i de référence}}}{\gamma^2_{\text{composé i de référence}}}$$

Le composé i de référence possède un substituant de moins que le composé étudié.

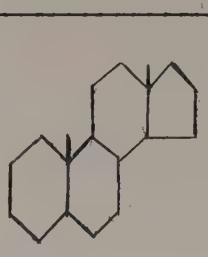
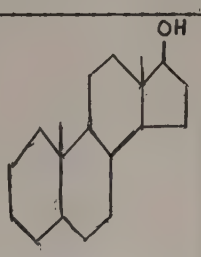
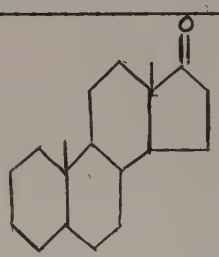
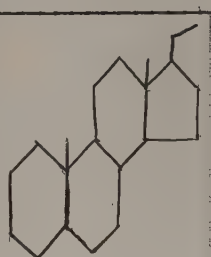
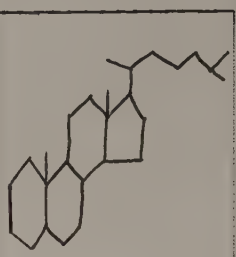
Composés	 5α-androstane		 5α-androstane - 17 ol		 5α-androstane - 17 one		 5α-pregnane		 5α-cholestane	
	référence 1	δ_1		δ_1		δ_1		δ_1		δ_1
γ^2_{calc} Å^6	30	0	31	3%	34	13%	32	7%	50	66%
γ^2_{exp} Å^6	31 ± 3	0	65 ± 15	110%	63 ± 8	105%	42 ± 4	35%	105 ± 7	240%

TABLEAU N° 13

Anisotropies optiques moléculaires de dérivés du 5 -androstane substitués en position 17 β.

(*) Remarque : l'écart relatif, tel que nous l'avons calculé est par hypothèse réparti sur l'ensemble des 22 liaisons carbone-carbone du cycle. Nous ne savons évidemment pas quelle est la validité de cette hypothèse. Mais si cet écart relatif se localise seulement aux liaisons proches de la position 17, leur anisotropie optique doit être encore plus élevée que l'anisotropie optique moyenne que nous avons calculée. Cela nous conduirait à admettre des valeurs d'anisotropie optique de liaison carbone-carbone très importantes.

On peut remarquer d'après ce tableau que toutes les valeurs des écarts relatifs des anisotropies optiques observées causées par les substitutions en position 17 β sont supérieures à celles que prévoit le calcul qui ne tient compte que des écarts normaux dûs à la plus grande anisotropie d'un substituant par rapport à l'autre.

Remarque : l'écart relatif est le plus élevé lorsque le 5α-androstane est substitué en 17 β par une chaîne isooctanique, c'est-à-dire dans le cas du 5α-cholestane.

Il nous paraît par ailleurs extrêmement intéressant de noter que le seul cas où il y a accord entre valeurs expérimentales et calculées est celui du 5α-androstane seul composé cyclopentano-phénanthrénique non substitué.

II - Stéroïdes substitués en position 3 β

Nous avons porté dans le tableau n° 14 les valeurs des anisotropies optiques calculées et observées de quelques dérivés du 5α-androstane substitué en position 3 β ainsi que les écarts relatifs δ_1 calculés et observés causés par cette substitution.

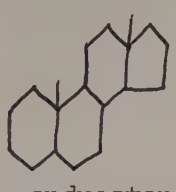
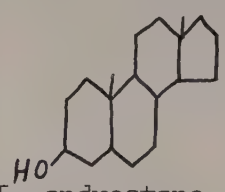
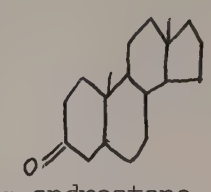
Composés	 5α-androstane		 5α-androstane - 3 β ol		 5α-androstane - 3 one	
	Référence 1	δ_1		δ_1		δ_1
γ^2_{calc} Å^6	30	0%	39	30%	57	90%
γ^2_{exp} Å^6	31 ± 3	0%	60 ± 8	94%	52 ± 5	68%

TABLEAU N° 14

5α-androstane substitué en 3 β

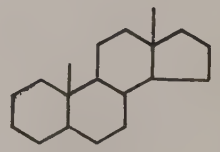
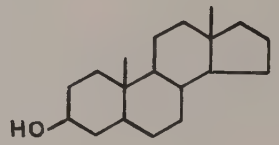
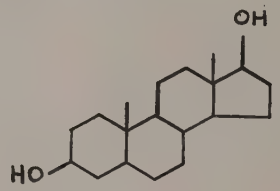
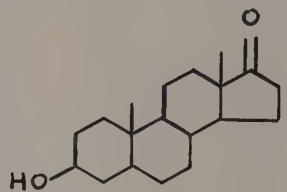
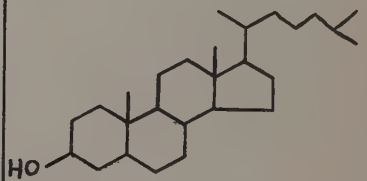
Composés	 5α-androstane			 5α-androstane - 3 β ol			 5α-androstane 3 β , 17 β diol			 5α-androstane - 3 β ol, 17 one			 5α-cholestane - 3 β ol		
	Référence 1	δ_1	δ_2	Référence 2	δ_1	δ_2		δ_1	δ_2		δ_1	δ_2		δ_1	δ_2
γ^2_{calc} Å^6	30	0%	-	39	30%	0%	40	33%	2%	42	40%	8%	61	103%	56%
γ^2_{exp} Å^6	31 ± 3	0%	-	60 ± 8	94%	0%	- (*)	-	-	58 ± 10	87%	-3%	113 ± 7	265%	88%

TABLEAU N°15 : Anisotropies optiques calculées et expérimentales de quelques dérivés du 5α-androstane-3 β ol.

δ_1 : écart relatif d'anisotropie optique par rapport au 5α-androstane

δ_2 : écart relatif d'anisotropie optique par rapport au 5α-androstane-3 β ol

*) Le 5α-androstane-3 β, 17 β diol est insoluble dans les solvants utilisés.

N'ayant pu étudier qu'un nombre restreint de composés, nous ne pouvons malheureusement pas généraliser l'effet dû à la substitution en 3 β, comme nous l'avons fait dans le cas de la substitution en 17 β.

Toutefois, si par rapport à l'écart relatif calculé, l'écart relatif expérimental dans le cas du 5α-androstane-3 one est du même ordre de grandeur, dans le cas du 5α-androstane-3β ol, il est là encore supérieur.

III - Stéroïdes substitués simultanément en 3 β et 17 β

1 - Fonction alcool en position 3 β

Le tableau n° 15 présente les valeurs des anisotropies optiques calculées et expérimentales de quelques dérivés substitués en 17 β du 5α-androstane - 3β ol ainsi que les écarts relatifs δ_1 par rapport au 5α-androstane (δ_1 traduit donc l'effet des substitutions simultanées en 3 et 17) et δ_2 par rapport au 5α-androstane- 3βol (δ_2 traduit l'effet de la seule substitution en 17 lorsque la position 3 est déjà substituée par la fonction alcool).

a) Toutes les valeurs de δ_1 observées sont supérieures à celles calculées, c'est-à-dire que les substitutions simultanées en 3 β par la fonction alcool et en 17 β par un substituant différent, causent une exaltation des valeurs des anisotropies optiques supérieures à celle que peut prévoir le calcul.

b) Si l'on compare les valeurs de δ_2, on peut remarquer que la substitution en 17 β par la fonction cétone diminue la valeur de l'anisotropie optique du composé (c'est un résultat analogue à celui signalé dans le paragraphe II où la fonction cétone en 3 augmente moins l'anisotropie optique du composé, que ne le prévoit le calcul), et qu'inversement c'est à nouveau une augmentation qui est observée dans le cas d'une substitution en 17 β par la chaîne isooctanique.

On peut aussi remarquer que les écarts relatifs δ_2 sont inférieurs à ceux présentés dans le paragraphe I et obtenus dans le cas de molécules analogues substitués en 17 β uniquement (voir tableau n° 16). Il semble donc que la substitution en 3 β perturbe l'effet causé par la substitution en 17 β.

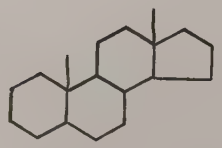
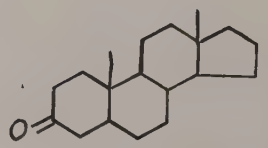
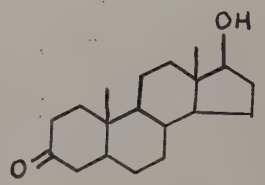
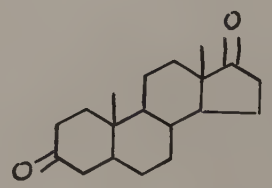
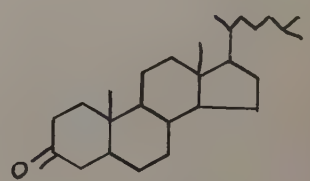
Composés	 5α-androstane			 5α-androstane-3 one			 5α-androstane - 3 one, 17 β ol			 5α-androstane - 3, 17 dione			 5α-cholestane - 3 one		
	Référence 1	δ_1	δ_3	Référence 3	δ_1	δ_3		δ_1	δ_3		δ_1	δ_3		δ_1	δ_3
γ^2_{calc} Å^6	30	0%	0%	57	90%	0%	57	90%	0%	57	90%	0%	81	170%	42%
γ^2_{exp} Å^6	31 ± 3	0%	0%	52 ± 5	68%	0%	48 ± 6	55%	-8%	50 ± 8	61%	-4%	75 ± 8	142%	45%

TABLEAU N°17 : Anisotropies optiques calculées et expérimentales de quelques dérivés du 5α-androstane-3 one

δ_1 : écart relatif d'anisotropie optique par rapport au 5α-androstane

δ_3 : écart relatif d'anisotropie optique par rapport au 5α-androstane-3 one

5α-androstane-17 one 5α-androstane-3β ol, 17 one	δ_1 = 105 % δ_2 = - 3 %
5α-cholestane 5α-cholestane-3β ol	δ_1 = 240 % δ_2 = 88 %

TABLEAU N° 16

2) Fonction cétone en position 3

Le tableau n° 17 présente les valeurs des anisotropies optiques calculées et expérimentales de quelques dérivés substitués en 17 β du 5α-androstane-3 one ainsi que les écarts relatifs δ_1 par rapport au 5α-androstane et δ_3 par rapport au 5α-androstane - 3 one :

a) Nous avons montré dans le paragraphe II que la substitution en 3 par une fonction cétone cause un écart relatif d'anisotropie optique légèrement inférieur à celui prévu par le calcul, nous voyons ici que cet effet est général : tous les écarts relatifs δ_1 observés sont inférieurs à ceux calculés quel que soit le substituant qui occupe la position 17β .

b) La substitution simultanée des positions 3 et 17 conduit à des valeurs d'écarts relatifs globaux δ_3 inférieurs à ceux déterminés à partir de la seule substitution en 17 comme le montre le tableau n° 18.

5α-androstane-17β ol 5α-androstane-3 one, 17β ol	δ_1 = 110 % δ_3 = - 8 %
5α-androstane-17 one 5α-androstane-3,17 dione	δ_1 = 105 % δ_3 = - 4 %
5α-cholestane 5α-cholestane-3 one	δ_1 = 240 % δ_3 = 45 %

TABLEAU N° 18

Nous retrouvons ici le résultat déjà obtenu dans le paragraphe 1) le stéroïde étant alors substitué en 3 par la fonction alcool.

Composés	5α-androstane			5α-cholestane			5α-cholestane-3 β ol			5α-cholestane-3 one			5α-cholestane -3 β chlorure		
	Référence 1	δ_1	δ_4	Référence 4	δ_1	δ_4		δ_1	δ_4		δ_1	δ_4		δ_1	δ_4
γ^2_{calc} Å^6	30	0%	-	50	66%	0%	61	103%	22%	81	170%	62%	97	220%	94%
γ^2_{exp} Å^6	31	0%	-	105 ± 7	240%	0%	113 ± 7	265%	8%	75 ± 8	142%	-28%	86 ± 8	174%	-18%

TABLEAU N°19 : Anisotropies optiques calculées et expérimentales de quelques dérivés du 5α-cholestane

δ_1 : écart relatif d'anisotropie optique par rapport au 5α-androstane

δ_4 : écart relatif d'anisotropie optique par rapport au 5α-cholestane

Ainsi, il semble bien que quel que soit le substituant en position 3, la substitution en position 17 perturbe complètement les variations d'anisotropies optiques auxquelles on pourrait s'attendre.

c) Ici encore, nous voyons que la plus forte exaltation est encore causée par la présence de la chaîne isooctanique en position 17. Cet effet semble donc général quel que soit le stéroïde étudié (à cycles saturés).

3) Chaîne isooctanique en 17 β

Le tableau n° 19 présente les valeurs des anisotropies optiques calculées et expérimentales de quelques dérivés substitués en 3 β ou 5α-cholestane ainsi que les écarts relatifs δ_1 par rapport au 5α-androstane et δ_4 par rapport au 5α-cholestane :

a) Toutes les valeurs de δ_1 sont élevées. Encore une fois, nous remarquons que la chaîne isooctanique cause une exaltation des anisotropies optiques des composés, quel que soit le substituant en 3. Celle-ci est supérieure à ce que prévoit le calcul dans le cas où il n'y a pas de substituant en 3 et dans le cas où ce substituant est le groupement alcool ; elle est inférieure à ce que prévoit le calcul dans les autres cas (chlore, fonction cétone), c'est-à-dire essentiellement pour des substituants beaucoup plus anisotropes.

b) Les valeurs de δ_4, c'est-à-dire les valeurs des écarts relatifs par rapport à la molécule déjà substituée en position 17 par une chaîne isooctanique, sont, soit plus faibles que ce que prévoit le calcul (5α-cholestane-3β ol) soit franchement négatives (5α-cholestane-3 one, 5α-cholestane-3 β chlorure).

IV - Etude de l'influence de la liaison insaturée 5-6 sur la valeur de l'anisotropie optique moléculaire.

Le tableau n° 20 présente les valeurs des anisotropies optiques calculées et expérimentales de quelques stéroïdes possédant une liaison insaturée en 5-6 et des stéroïdes analogues n'en possédant pas, ainsi que les écarts relatifs δ_i par rapport à ces derniers.

Composés	5α-androstane-3 β ol		5α-androstène - 3 β ol		5α-cholestane		5-cholestène		5α-cholestane - 3 β ol		5-cholestène - 3 β ol cholestérol		5α-cholestane - 3 one		5-cholestène - 3 one		5α-cholestane - 3 β Cl		5-cholestène - 3 β Cl	
	Réf.2	δ		δ_2	Réf.4	δ_4		δ_4	Réf.5	δ_5		δ_5	Réf.6	δ_6		δ_6	Réf.7	δ_7		δ_7
γ^2_{calc} Å^6	39	0%	52	33%	50	0%	59	18%	61	0%	71	16%	81	0%	92	14%	97	0%	108	11%
γ^2_{exp} Å^6	60±8	0%	110±8	83%	105±7	44%	151±8	44%	113±7	0%	158±5	40%	75±8	0%	130±10	73%	86±7	0%	140±7	63%
$\frac{\delta_{i\ exp}}{\delta_{i\ calc}}$	-		2,5		-		2,5		-		2,5		-		5,2		-		5,7	

TABLEAU N°20 : Anisotropies optiques expérimentales et calculées de stéroïdes ne possédant pas de liaison insaturée en 5-6 et de stéroïdes en possédant une.

$$\delta_i = \frac{\gamma^2_{\text{composé étudié}} - \gamma^2_{\text{composé i de référence}}}{\gamma^2_{\text{composé i de référence}}}$$

1) Le remplacement d'une liaison saturée par une liaison insaturée plus anisotrope, placée suivant une direction sensiblement parallèle à l'axe de plus grande polarisabilité de la molécule fait augmenter son anisotropie optique, comme le prévoit le calcul. Expérimentalement, nous constatons bien une augmentation d'anisotropie optique. Toutefois, les écarts relatifs observés : $\delta_{i\ exp.}$ dûs à ce remplacement sont bien supérieurs à ceux prévus par le calcul $\delta_{i\ calc.}$. Il semble bien, là encore, que l'augmentation de l'anisotropie optique d'une liaison au sein même de la molécule se traduise par une amplification de l'effet attendu.

2) Nous remarquons que les valeurs du rapport des écarts relatifs expérimentaux et calculés : δ_i exp/$\delta_i$calc, sont égales à environ 2,5 dans les 3 premiers cas ; on peut penser que la contribution de la liaison insaturée à l'exaltation de l'anisotropie optique de ces composés ne dépend pas de la nature des substituants en 3 et 17 dans ce cas.

Cette valeur du rapport est voisine de 5,5 dans le cas des dérivés cétoniques et chloré en 3 du 5-cholestène. On peut penser que cette augmentation provient de la plus forte polarité des liaisons C=O et C-Cl qui peuvent interagir plus fortement que les précédentes avec le dipôle voisin de la liaison insaturée (distance de l'ordre de 4 Å). Elles pourraient ainsi perturber les anisotropies optiques des composés de façon bien plus intense.

REMARQUES

On peut illustrer cette étude d'une autre manière en traçant les courbes $\gamma^2 = f(\gamma_{C_3\text{-}X})$ où $\gamma_{C_3\text{-}X}$ est l'anisotropie optique de la liaison joignant l'atome de carbone numéroté 3 au substituant porté par celui-ci (figure n° 3).

On remarque que les courbes passant par les points représentatifs des anisotropies optiques calculées des dérivés du 5α-androstane, du 5α-cholestane et du 5-cholestène sont parallèles. En effet, ces points respectent bien les différences d'anisotropie optique dûes à la présence d'une chaîne isooctanique et de la double liaison respectivement.

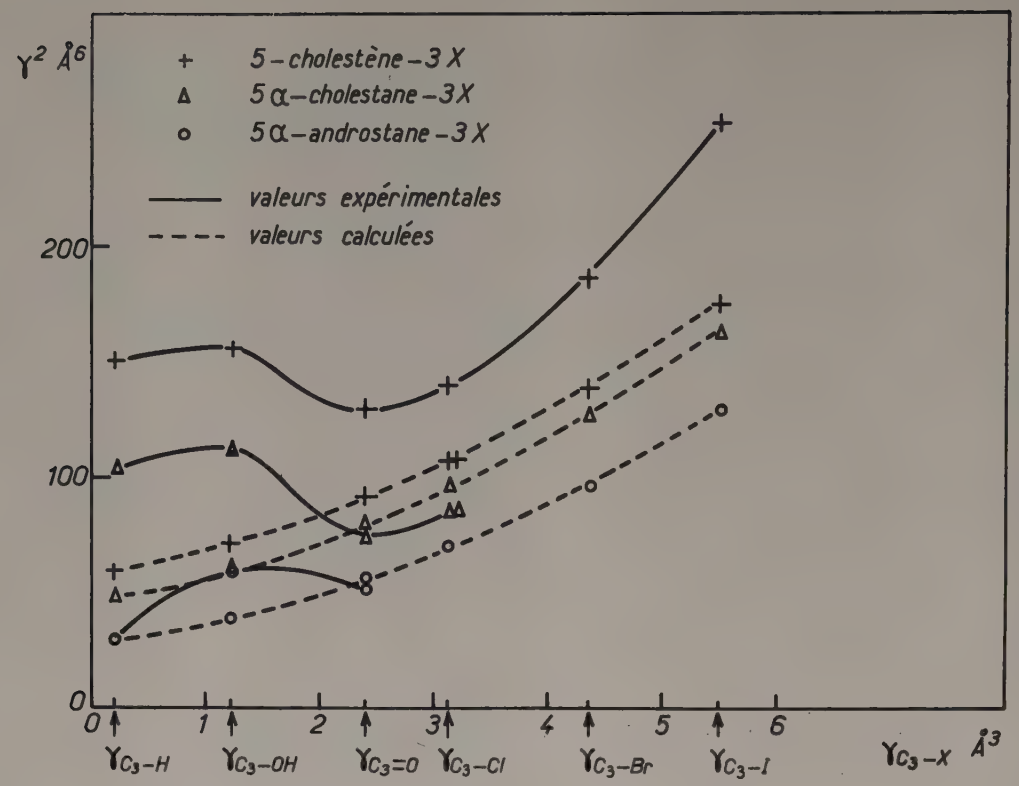


FIGURE 3

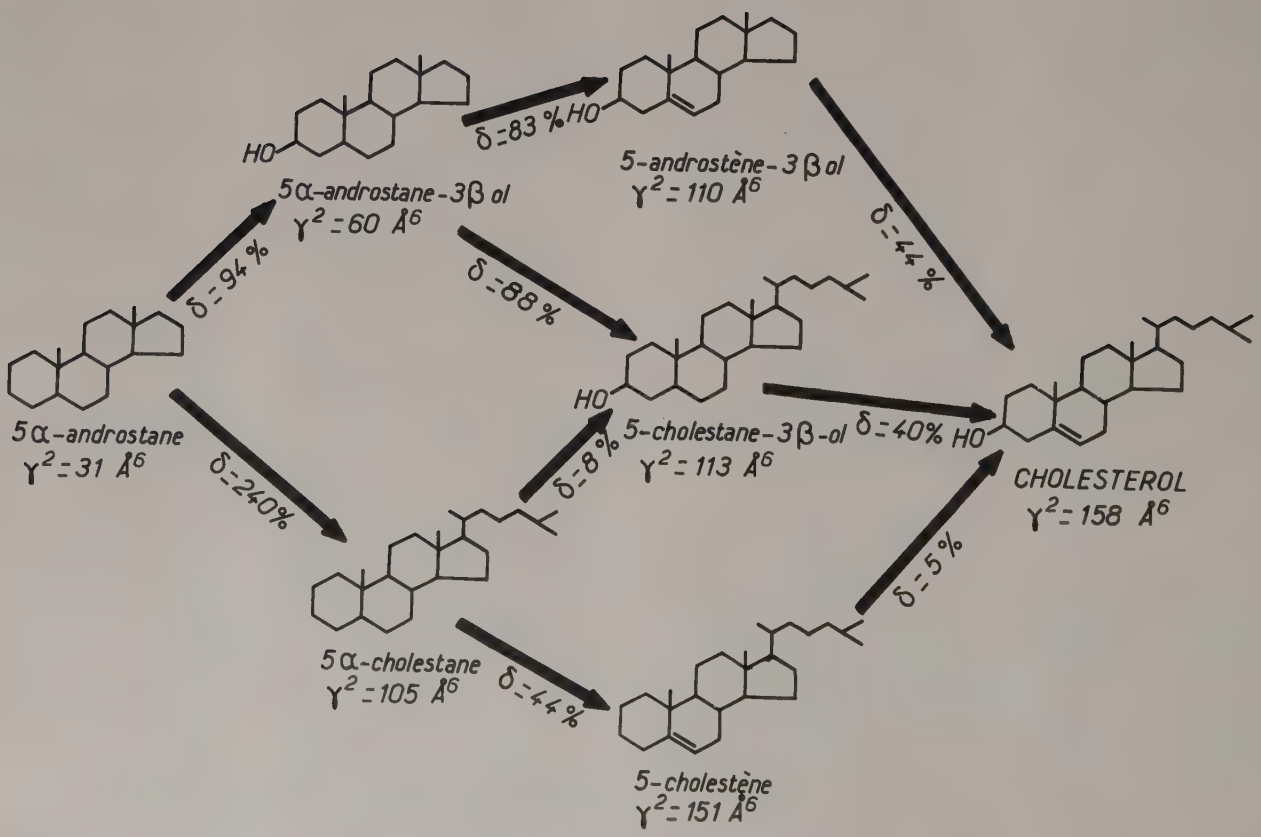


FIGURE 4

De plus, elles croissent régulièrement avec l'anisotropie optique de la liaison C_3-X, ce qui est a priori normal ; en effet, la plus grande polarisabilité $\alpha_{//}$ de cette liaison est placée sensiblement suivant l'axe de plus grande polarisabilité de la molécule |30|.

Par contre, le comportement des valeurs expérimentales est nettement différent. En effet, s'il semble bien que ces courbes croissent régulièrement à partir des valeurs relativement fortes d'anisotropie optique de la liaison C_3-X (au-delà de $\gamma_{C_3-X} = 3$ Å^3), il n'en est pas de même pour les valeurs plus faibles. Dans ce domaine, les valeurs d'anisotropie optique augmentent d'abord puis diminuent lorsqu'on fait croître régulièrement la valeur de γ_{C_3-X}. Ces courbes mettent bien en évidence le comportement particulier de la substitution en position 3 par des substituants relativement polaires et anisotropes.

V - Conclusion

On peut résumer cette étude selon les 5 points essentiels suivants :

1) La substitution en 3β augmente l'anisotropie optique des composés, quel que soit ce substituant.

2) La substitution en 17β augmente l'anisotropie optique des composés plus que ne le prévoit le calcul et quel que soit le substituant. L'effet le plus important est observé avec la chaîne isooctanique.

3) Lorsque ce substituant est la fonction cétone, son effet se traduit de deux façons : il y a exaltation qui est inférieure à celle prévue par le calcul (sauf dans le cas du 5α-androstane-17 one), il n'y a pas exaltation la fonction cétone tend à faire diminuer l'anisotropie optique des composés.

4) Quand on considère les stéroïdes disubstitués, on ne peut pas prévoir à priori suivant la nature et la place de ce substituant quel sera le sens la modification de l'anisotropie optique par rapport aux dérivés non substitués.

5) La liaison insaturée augmente l'anisotropie optique des composés bien plus que ne le prévoit le calcul, quelle que soit la nature des substituants et d'autant plus que ces substituants sont plus polaires.

Afin d'illustrer les principaux résultats de cette étude, nous avons présenté dans le schéma suivant les contributions relatives expérimentales de chaque cause d'exaltation d'anisotropie optique lors du passage du 5α-androstane au cholestérol (figure n° 4).

Nous voyons donc que quel que soit le type de stéroïde étudié, le cholestérol n'est pas un cas particulier et que la forte valeur de son anisotropie optique est due à la présence simultanée de la chaîne isooctanique, de la fonction alcool et d'une liaison insaturée.

Ainsi, le calcul de l'anisotropie optique - tel qu'il est fait actuellement - semble insuffisant pour expliquer les valeurs expérimentales de l'ensemble des composés étudiés substitués.

Cette insuffisance n'apparaît que lorsque le cycle est substitué.

Comme le modèle d'interactions électrostatiques rend compte des valeurs expérimentales d'anisotropies optiques d'un ensemble de molécules non substituées quel que soit le nombre de cycles, il semble donc que la substitution introduise une anomalie dans le comportement de la structure électronique de la molécule.

Il semble bien, par ailleurs, que l'exaltation d'anisotropie optique observée reflète un phénomène à l'échelle intramoléculaire plus complexe que ceux que nous avons étudiés précédemment puisque les anisotropies de chaque liaison de la molécule sont perturbées de façon importante.

Il nous semble alors qu'un tel comportement au niveau même de la molécule doit avoir des conséquences importantes quant au comportement de ce type de molécules vis-à-vis d'un partenaire, donc au niveau des interactions intermoléculaires.

CINQUIEME PARTIE

INTERACTIONS ORIENTEES

CHOLESTEROL - ALCANES NORMAUX

Comme nous l'avons rappelé dans l'introduction à ce travail, l'une des propriétés fondamentales du cholestérol est d'orienter les chaînes phospholipidiques de la membrane.

Dans cette dernière partie, nous tenterons de mettre en évidence les éléments qui confèrent au cholestérol cette propriété particulière.

I - PARAMETRE $J_{12}^{A\infty}$ DE CORRELATIONS D'ORIENTATIONS MOLECULAIRES

Lors de la présentation de la seconde partie de ce travail, nous avons signalé que l'intensité dépolarisée diffusée par une solution et donc son anisotropie optique "apparente" tient compte des interactions intermoléculaires qui sont :

- les interactions soluté-soluté
- les interactions solvant-solvant
- les interactions soluté-solvant

Dans l'étude présente concernant des solutions de stéroïdes et d'alcanes normaux, contrairement aux études présentées dans les autres parties de ce travail, les interactions solvant-solvant et soluté-solvant ne sont plus négligeables. Les solutions étudiées sont suffisamment diluées pour que l'on puisse supposer que les interactions soluté-soluté sont négligeables (molécules très éloignées les unes des autres).

Nous considèrerons constantes les interactions solvant-solvant dans le domaine utilisé de faible concentration en soluté : le soluté ne perturbe pas trop ces interactions solvant-solvant |53|.

Dans ce travail, nous examinerons plus particulièrement les interactions soluté-solvant.

A l'aide du modèle microscopique d'interactions intermoléculaires élaboré par KIELICH |48|, nous définissons (voir appendice) le paramètre $J_{12}^{A\infty}$ dont les valeurs traduisent la tendance qu'ont les molécules à se corréler dans des solutions infiniment diluées |28|.

$$J_{12}^{A\infty} = \frac{\gamma_{2(a)}^{2\infty} - \gamma_{2(i)}^{2\infty}}{2\,\gamma_{1(i)}^{\infty}\,\gamma_{2(i)}^{\infty}}$$

Dans cette formule :

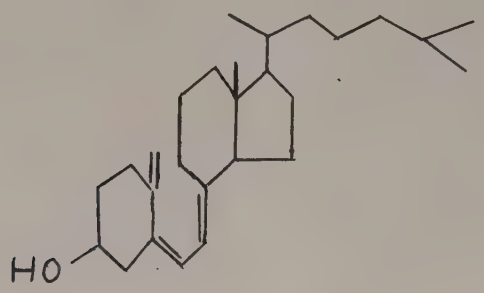
- les indices 1 et 2 représentent respectivement le solvant (ici alcane normal) et le soluté (ici stéroïde).

- $\gamma_{1(i)}^{2\infty}$ et $\gamma_{2(i)}^{2\infty}$ sont respectivement les anisotropies optiques des composés 1 et 2 déterminées à dilution infinie dans un solvant isotrope (*)

- $\gamma_{2(a)}^{2\infty}$ est l'anisotropie optique du composé 2 déterminée à dilution infinie dans un solvant anisotrope.

Dans le tableau n° 21 sont présentées les valeurs du paramètre de corrélations d'orientation $J_{12}^{A\infty}$, de quelques dérivés du cholestérol.

Nous donnons également les valeurs relatives à la vitamine D_3 ou cholcalciférol de structure analogue à celle du cholestérol dont le cycle B est ouvert entre les carbones 9 et 10. |35|.



Il ne nous a pas été possible d'étudier tous les solutés dans tous les solvants, soit à cause de la faible quantité de produit disponible, soit à cause de la trop faible solubilité des stéroïdes dans ces solvants.

Rappelons que les valeurs expérimentales des anisotropies optiques moléculaires de ces stéroïdes, déterminées dans ces solvants, sont présentées dans le tableau n° 7 de la deuxième partie de ce travail.

(*) Dans cette étude, le solvant quasi isotrope choisi est le cyclohexane, bien que nous sachions qu'il n'est pas totalement isotrope ; cependant, comme nous l'avons fait remarquer par ailleurs, les anisotropies optiques déterminées dans ce solvant sont très voisines de celles déterminées dans d'autres solvants également peu anisotropes. C'est donc cette valeur que nous utiliserons comme référence.

Solutés \ Solvants		nC_8H_{18}	$nC_{10}H_{22}$	$nC_{12}H_{26}$	$nC_{14}H_{30}$	$nC_{16}H_{34}$
Stéroïdes dérivés du cholestérol	5α-androstane	1,07	0,97	0,86	0,81	-
	5α-cholestane	0,19	0,36	0,62	0,74	-
	5α-cholestane - 3β ol	0,11	-	0,65	0,87	0,59
	5α-cholestane - 3 one	0,66	0,65	0,95	-	1,08
	5 -cholestène - 3 one	0,68	0,70	-	1,02	0,88
	5 -cholestène - 3 β Cl	0,57	0,60	-	1,49	1,68
	5 -cholestène - 3β ol ou CHOLESTEROL	0,88	$nC_{11}H_{24}$ 1,37		1,63	2,02
Cycle B ouvert	Vitamine D_3 ou Cholcalciférol	0,10	0,21	0,38	-	

TABLEAU N° 21

Valeurs de $J_{12}^{A\infty}$ de quelques composés en solution dans les alcanes normaux

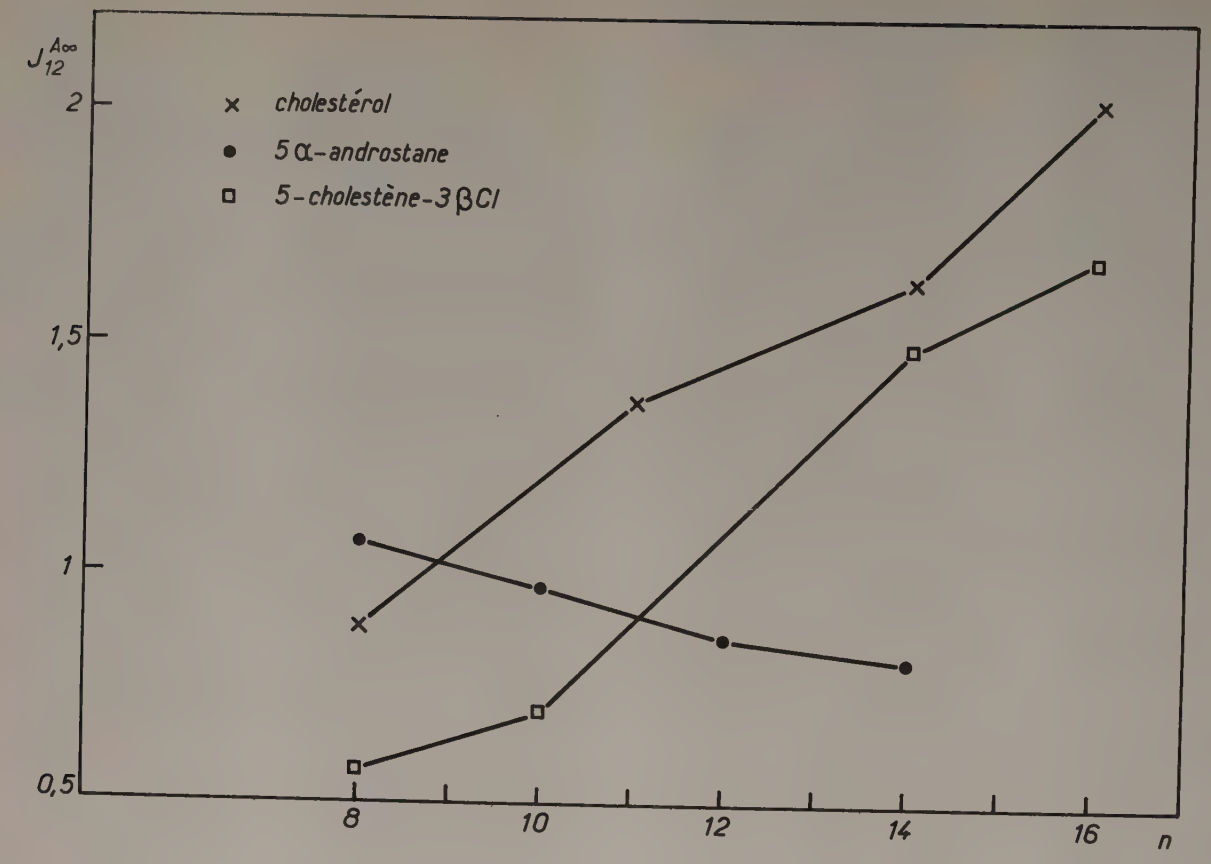


FIGURE 5

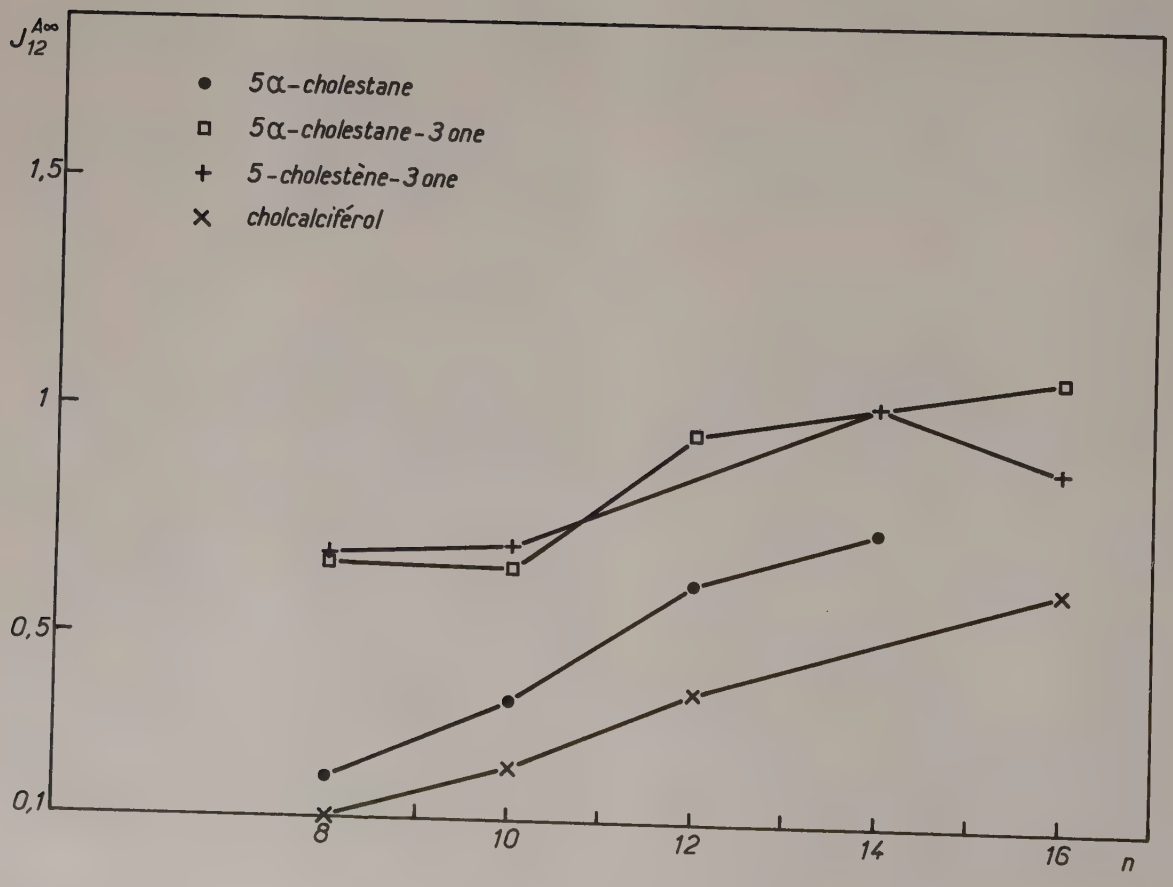


FIGURE 6

II - Interprétation des valeurs de $J_{12}^{A\infty}$

1) Analyse globale des résultats

Le tableau n° 21 appelle les remarques suivantes :

a) Aucune des valeurs de $J_{12}^{A\infty}$ n'est nulle, elles sont toutes positives ; ce qui signifie que les corrélations d'orientations existent et que les axes de plus grande symétrie des molécules de soluté (stéroïde) et de solvant (alcane) ont tendance à se placer parallèlement.

b) Toutes ces valeurs sont élevées ; par exemple dans le cas du cholestérol, elles varient de 0,88 à 2,02 lorsque le solvant est respectivement l'octane normal et l'hexadécane normal alors qu'elles ne varient que de 0,03 à 0,07 en valeurs absolues, dans le cas du cycle benzénique dans les mêmes solvants |28|.

c) Les valeurs de $J_{12}^{A\infty}$ se classent de deux façons différentes selon le type de molécules :

- elles croissent régulièrement avec le nombre d'atomes de carbone de l'alcane normal dans le cas des stéroïdes possédant une chaîne isooctanique en 17 β.
- elle est pratiquement constante dans le cas du 5α-androstane dans lequel la chaîne isooctanique est absente (voir figure n° 5).

2) Analyse détaillée des résultats

a) Importance du plateau cyclopentano-perhydrophénanthrénique

La structure du stéroïde constituée par 4 cycles accolés semble nécessaire pour pouvoir présenter des corrélations d'orientations suffisamment importantes. En effet, nous constatons que pour la vitamine D_3 (cholcalciférol) qui n'est pas un stéroïde à cause de l'absence de la jonction 9-10 fermant le cycle B, les valeurs de $J_{12}^{A\infty}$ sont beaucoup plus faibles que celles du cholestérol (figure n° 6). Or, l'absence de cette liaison permet une certaine mobilité du cycle A autour de la liaison 6-7. Dans ces conditions, nous savons à priori que les interactions orientées doivent être défavorisées.

b) Rôle de la substitution en 3 β

α) Cas de la fonction alcool

La comparaison des valeurs de $J_{12}^{A\infty}$ relatives au 5α-cholestane et au 5α-cholestane-3β ol montre que ces valeurs sont quasiment identiques (fig. n°7) elles croissent normalement avec le nombre d'atomes de carbone de l'alcane mais de façon identique dans les deux cas. Il semble donc que la fonction alcool n'influe pas sur les corrélations d'orientation stéroïde/alcane.

β) Cas de la liaison C-Cl

De même la comparaison des valeurs de $J_{12}^{A\infty}$ du 5-cholestène-3β ol ou cholestérol à celles du 5-cholestène-3 Cl indique que ces valeurs sont aussi pratiquement identiques (figure n° 5). Ces deux composés ne diffèrent que par leur substitution en 3 β.

Comme dans le cas précédent, la substitution par le chlore ne semble pas perturber les corrélations d'orientation stéroïde, alcane.

La substitution en 3 β ne semble donc pas jouer un rôle important dans les corrélations d'orientation pour ces deux types de composés.

Il semble donc, comme dans les travaux antérieurs |28||51| que ces corrélations d'orientation sont essentiellement dues aux interactions par forces de dispersion entre les liaisons carbonées du stéroïde et de l'alcane.

c) Rôle de la fonction cétone

α) Fonction cétone sur les stéroïdes saturés

La comparaison des valeurs de $J_{12}^{A\infty}$ relatives au 5α-cholestane et au 5α-cholestane-3 one montre que les secondes valeurs sont supérieures aux premières (figure n° 6).

On peut donc penser que contrairement aux substitutions précédentes, la fonction cétone joue un rôle prépondérant dans l'établissement des corrélations d'orientation (probablement par l'intermédiaire des modifications électroniques que nous avons mises en évidence précédemment).

Peut-être faut-il rapprocher cette propriété due à l'existence en position 3 de la fonction cétone des propriétés particulières des hormones stéroïdes essentielles (testostérone, cortisone ...) ?

D'autre part, ces valeurs sont inférieures à celles relatives au cholestérol. Elles sont donc en faveur d'une interaction orientée "plus faible" dans le premier cas. On peut donc penser que les chaînes aliphatiques sont plus libres en présence de 5α-cholestane-3 one qu'en présence de cholestérol.

Ces résultats peuvent être rapprochés de ceux obtenus par I.C.P. SMITH |12| qui a montré en utilisant les marqueurs de spin que le 5α-cholestane-3one ordonne plus faiblement les chaînes aliphatiques que le cholestérol.

β)Fonction cétone sur les stéroïdes insaturés

Les valeurs de $J_{12}^{A\infty}$ relatives au 5α-cholestane-3 one et au 5-cholestène-3one sont sensiblement identiques (figure n° 6). La liaison insaturée en position 5-6 des cycles ne modifie pas dans ce cas les corrélations d'orientation lorsque les cycles sont substitués en 3 par la fonction cétone. Il semblerait que l'on retrouve là l'effet mis en évidence dans la quatrième partie de ce travail : la fonction cétone perturbe fortement la répartition électronique de la molécule si bien que les autres effets (substitution hors du cycle ou liaison insaturée) sont masqués.

d) Importance de la liaison insaturée 5-6

La comparaison des valeurs des paramètres de corrélations d'orientation relatifs au 5α-cholestane-3β ol et au 5-cholestène-3 β ol (cholestérol), met en évidence l'importance de la liaison insaturée située en position 5-6 des cycles. (figure n° 7).

Les secondes valeurs de $J_{12}^{A\infty}$ sont bien supérieures aux premières ; comme ces composés ne diffèrent que par la présence de la liaison insaturée, il semble que celle-ci soit en partie responsable des fortes valeurs de $J_{12}^{A\infty}$.

III - CONCLUSION

Le cholestérol est le composé qui présente les plus fortes corrélations d'orientation avec les alcanes normaux, squelette carboné des phospholipides.

Ce résultat peut être rapproché de ceux de VAN DEENEN |55| qui a recherché les éléments nécessaires aux stéroïdes pour que leur interaction avec la lécithine à l'interface air-eau soit la plus intense.

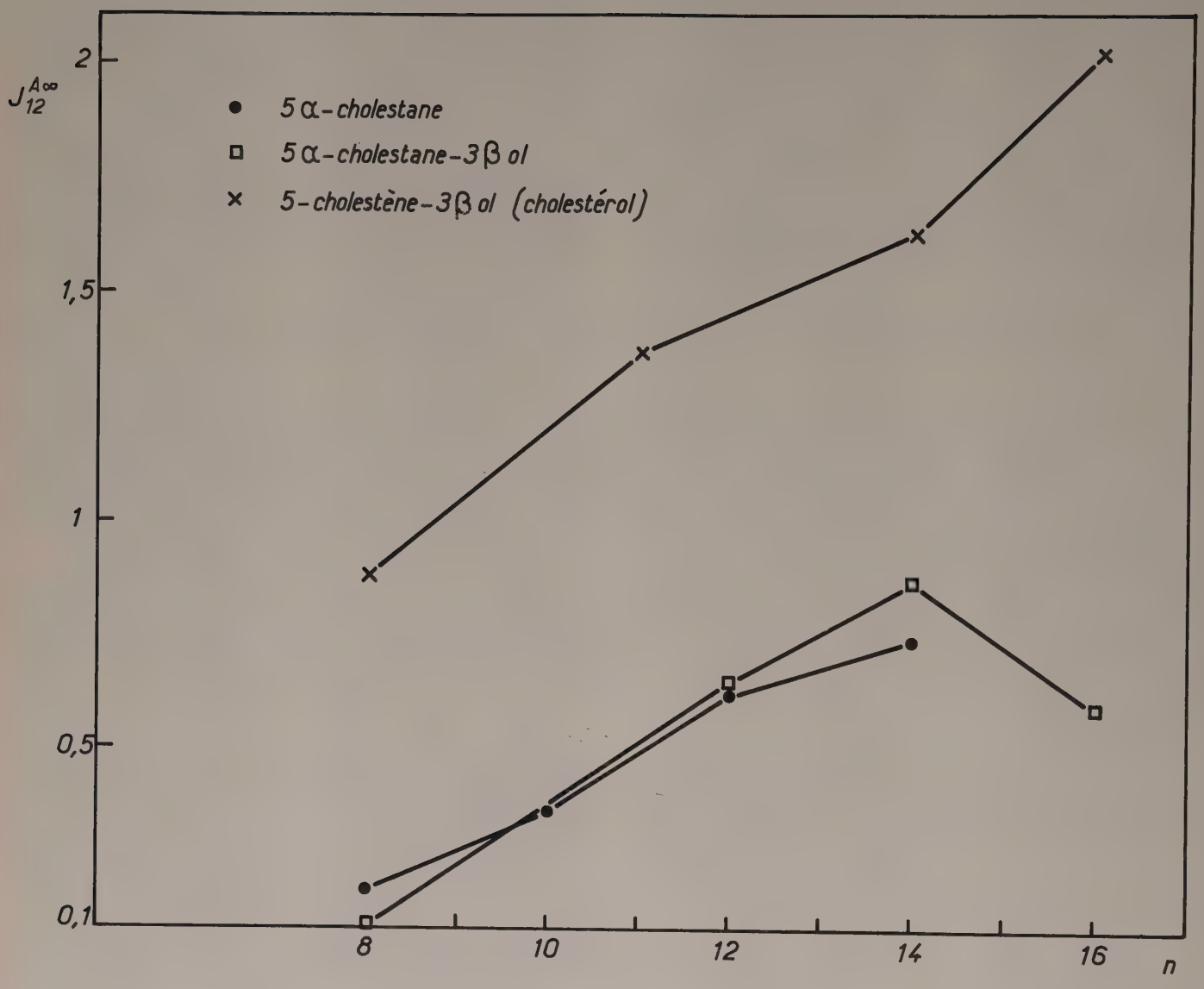

$J_{12}^{A\infty}$
2
1,5
1
0,5
0,1
5 α-cholestane
5 α-cholestane-3 β ol
5-cholestène-3 β ol (cholestérol)
8
10
12
14
16
n

FIGURE 7

Il est aussi à rapprocher de ceux de R.A. LONG |56| qui a étudié l'influence de la structure du stéroïde sur la possibilité d'orientation d'un marqueur de spin dans des films de lécithine d'oeuf déshydraté.

Nous avons montré que les axes de plus grande symétrie des molécules de cholestérol et d'alcane ont tendance à se placer parallèlement ($J_{12}^{A\infty} > 0$: paratropisme).

Ce résultat corrobore les modèles théoriques développés par FINEAN |23| et VANDENHEUVEL F.A. |57| qui ont supposé que la partie hydrocarbonée des phospholipides interagit avec la partie non polaire du cholestérol.

Cette dernière hypothèse a été confirmée par les travaux de D. CHAPMAN et S.A. PENKETT |58| d'une part, et A. DARKE, E.G. FINER, A.C. FLOOK et M.C. PHILLIPS |59| d'autre part qui ont étudié par spectroscopie de résonance magnétique nucléaire les interactions cholestérol-lécithine de jaune d'oeuf. Ces derniers auteurs ont précisé que le complexe est formé par forces de VAN DER WAALS entre la molécule de stéroïde et les dix premiers groupements méthylènes de chaque chaîne de lécithine, la durée d'existence de ce complexe équimoléculaire étant supérieure à 30 msec.

CONCLUSION GENERALE

On sait que le cholestérol joue un rôle important en biologie au niveau des propriétés structurales et de perméabilité de la membrane. C'est pourquoi dans le cadre des études entreprises au Centre de Recherches Paul Pascal, nous nous sommes plus particulièrement intéressés à la conformation et aux possibilités d'interactions du cholestérol avec des partenaires.

Afin de tenter d'expliquer la forte valeur de l'anisotropie optique du cholestérol en solution diluée, valeur supérieure à celle prévue par le calcul, nous avons procédé à l'examen des diverses causes possibles de cette exaltation.

Pour ce faire, dans un premier temps, nous avons fait une étude critique du modèle d'interactions électrostatiques entre liaisons chimiques que nous avons testé sur de nombreuses molécules. Il nous paraît important de noter que quel que soit le nombre de cycles, ce calcul a pu rendre compte des valeurs expérimentales : cyclohexane (un cycle), décaline-trans (2 cycles identiques), hydrindane (2 cycles différents), perhydrophénanthrène (3 cycles identiques), 5α-androstane (stéroïde : 4 cycles dont 3 identiques).

Après avoir montré que les interactions électrostatiques ne suffisent pas à expliquer l'anisotropie optique observée du cholestérol, dans un deuxième temps, nous avons montré que cette valeur expérimentale très élevée n'est pas due à l'existence de la seule conformation entièrement trans de la chaîne isooctanique en 17β , ni à l'existence d'associations par liaisons par pont hydrogène ou par forces de dispersion aux concentrations étudiées. De plus, nous avons pu mettre en évidence une concentration limite pour laquelle la distance intermoléculaire est voisine de la plus grande dimension de la molécule de cholestérol et au-delà de laquelle les corrélations d'orientation entre molécules peuvent se manifester.

Nous avons pu ensuite généraliser ces résultats en étudiant l'influence des diverses substitutions du cyclopentano-perhydrophénanthrène. Nous avons ainsi noté la très grande cohérence des résultats quels que soient les substituants en 3 et 17. Ces résultats montrent que les substitutions en 3 et 17 ainsi que la présence de la liaison insaturée joignant les atomes de carbones 5 et 6, causent une exaltation de l'anisotropie optique des composés supérieure à celle que l'on peut attendre.

Enfin, nous avons montré qu'il existe de fortes corrélations d'orientations entre le cholestérol et les chaînes aliphatiques. L'existence de ces interactions a été formulée ces dernières années pour rendre compte d'expériences diverses dans des milieux complexes, tels que les dispersions aqueuses de phospholipides et de cholestérol, ou même directement dans les membranes biologiques. Mais c'est la première fois, à notre connaissance, qu'est démontrée leur existence entre le cholestérol et les chaînes aliphatiques isolées, sans l'apport d'une structure contraignante, comme celle des bicouches lipidiques. Nous avons vu que sans influence extérieure, les chaînes aliphatiques s'associent spontanément et d'une manière orientée, créant un ordre moléculaire à courte distance dans le mélange liquide.

Ces interactions orientées sont évidemment dues à des forces de dispersion importantes, dont la cause se trouve dans l'extraordinaire anisotropie de polarisabilité de ces stéroïdes. Nous ne savons pas encore quelle est l'origine de cette exaltation de l'anisotropie optique. Une étude tant expérimentale que théorique mériterait d'être entreprise. Mais déjà, ces premiers résultats font entrevoir l'origine des propriétés si particulières du cholestérol dans les phases mésomorphes, cristaux liquides et dans les membranes biologiques.

BIBLIOGRAPHIE

(1) RODD'S : "Chemistry of Carbon Compounds "Edition Coffrey II D. Elsevier Publishing Company (London).

D.N. KIRK et M.P. HARTSHORN : "Steroïd Reaction Mechanisms" (1968) - Elsevier Publishing Company (London).

HANACK : "Conformation Theory" - Acad. Press, Organic Chemistry N.Y. 3 (1965).

P. KARLSON : "Biochimie" - Edition Doin (1964).

(2) R.A. DEMEL, L.L.M. VAN DEENEN et B.A. PETHICA : B.B.A. (1967) 135, 11.

(3) E. OLDFIELD et D. CHAPMAN : F.E.B.S. Letters (1972), 21, 303.

(4) M.C. PHILLIPS, R.M. WILLIAMS et D. CHAPMAN : Chem. Phys. Lipids (1969) 3, 234.

(5) LADBROOKE et D. CHAPMAN : Chem. Phys. Lipids (1969) 3, 341.

(6) LEVINE, WILKINS : Nature N. Biol. (1971) 230, 69.

(7) D. CHAPMAN : Biological Membranes, Academic Press, New-York (1968).

(8) RAND et LUZZATI : Biophys. J. (1968) 8, 125.

(9) R. MENDELSOHN : B.B.A. (1972) 290, 15-21.

(10) HUBBELL et MAC CONNEL : J. Am. Chem. Soc. (1971) 93, 314.
J.C. HSIA, H. SCHNEIDER et I.C.P. SMITH : Can. J. of Bioch. (1971), 49, 614.

(11) L. DE BERNARD : Bull. Soc. Chim. Biol. (1958) 40, 11.

(12) K.W. BUTLER, I.C.P. SMITH et H. SCHNEIDER : B.B.A. (1970) 219, 514.
J.C. HSIA, H. SCHNEIDER et I.C.P. SMITH : B.B.A. (1970) 202, 399.

(13) J. DE GIER, J.D. MANDERSLOOT et L.L.M. VAN DEENEN : B.B.A. (1968) 150, 666.

(14) A.D. BANGHAM, J. DE GIER et G.D. GREVILLE : Chem. Phys. Lipids (1967) 1, 225.
K.W. BUTLER, H. DUGAS, I.C.P. SMITH et H. SCHNEIDER : Biochem. Biophys. Res. Commun, (1970) 40, 770.
J.C. HSIA, H. SCHNEIDER et I.C.P. SMITH : Chem. Phys. Lipids (1970) 4, 238.

(15) B. DE KRUYFF, R.A. DEMEL, L.L.M. VAN DEENEN : B.B.A. (1972) 255, 331.

(16) R.A. DEMEL, S.C. KINSKY, C.B. KINSKY et L.L.M. VAN DEENEN : B.B.A. (1968) 150, 655.

(17) R.A. DEMEL, K.R. BRUCKDORFER, L.L.M. VAN DEENEN : B.B.A. (1972) 255, 321.

(18) D. PAPAHADJOPOULOS et J.C. WATKINS : B.B.A. (1967) 135, 639.

(19) L.F. FIESER : Science (1954) 119, 710.

(20) GRAY : "Molecular structure and the properties of liquid crystal" R. Publ. N.Y..

(21) MLODZIEJOWSKI : Z. PHYSIK (1923) 20, 317.

(22) GAUBERT : Bull. Soc. Franc. Miner. Crist. (1912) 35, 64.
Comptes Rendus Acad. Sci. (1913) 156, 149.

(23) FINEAN : Experientia (1953) 9, 17.

(24) VANDENHEUVEL, F.A. : J. Ameri. Oil. Chem. Soc. (1963) 40, 455.

(25) PETHICA : Soc. Chem. Inc. London (1964) 19, 85.

(26) B.D. LADBROOKE et D. CHAPMAN : Chem. Phys. Lipids (1969) 3, 304.

(27) E. MONNIOT : Thèse de spécialité - Bordeaux (1971), n° 897.

(28) C. SUCH : Thèse d'Etat n° 380 - Bordeaux (1973).
C. SUCH, C. CLEMENT, P. BOTHOREL : C.R. Acad. Sci. (1970) 271 (C), 228.

(29) I.U.P.A.C. "Definitive Rules for Nomenclature of Steroïds" Butterworths London (1972).

(30) P. FOULANI : Thèse d'Etat - Bordeaux (1970), n° 282.

(31) C. CLEMENT, P. BOTHOREL : J. Chim. Phys. (1964) 66, 878-883.

(32) S.S. FRIEDLAND, G.H. LANE : Anal. Chem (1959) 31 (2), 169.

(33) Brevet C.N.R.S. France n° 102348 (1967). Constructeur : Electronique Appliquée 33-Gradignan.

J.J. PIAUD - Thèse n° 103 Bordeaux (1962)
J. Chim. Phys. (1962) 215-231.

(34) J.R. LALANNE, F.B. MARTIN, P. BOTHOREL, J. Colloïd Interface Sci. (1972) 39 (3), 601.

(35) P. KARLSON : "Biochimie", Ed. Doin (1964).

(36) E.H.L. MEYER et G. OTTERBEIN : Physik Z. (1931) 32, 290.
S.N. WANG : J. Chem. Phys. (1939) 7, 1012.

(37) K.G. DENBIGH : Trans-Faraday Soc. (1940) 36, 936.

(38) C. CLEMENT : C.R. Acad. Sci. (1967) 264, 1228-31.

(39) J. CANTACUZENE : J. Chim. Phys. (1962) 59 (2), 186.
C.R. Acad. Sci. (1963), 3066-3069.
J. Chim. Phys. (1968) 65 (3), 492-532.

(40) A. CARISTAN : Thèse d'Etat n° 239 - Bordeaux (1968).

(41) C. CLEMENT, P. FOULANI : C.R. Acad. Sci. Paris (1968) 267, 556-558.

(42) P. FOULANI, C. CLEMENT : Bull. Soc. Chim. (1970) 2, 450-459.

(43) C. CLEMENT : C.R. Acad. Sci. (1962) 255, 863-864.
P. BOTHOREL, C. CLEMENT, P. MARAVAL : C.R. Acad. Sci. (1967) 264, 568-570.

(44) C. CLEMENT : Thèse d'Etat n° 138 Bordeaux (1965).

(45) VANDENHEUVEL F.A. : J. Am. Oil. Chemists' Soc. (1963) 40, 455.

(46) C. CLEMENT, P. BOTHOREL : C.R. Acad. Sci. (1964) 258, 3843.

(47) C.H. CARLISLE, D. CROWFOOT : Proc. Roy. Soc. A (London) (1945) 184, 64.

(48) S. KIELICH : J. Chem. Physik (1967) 46, 4090.
J. Phys. (1958) 29, 619.
Chim. Phys. Letters 10 (5), 516.

(49) J.E. ZULL, S. GREANOFF, H.K. ADAM : Biochemistry (1968) 7, 4172.

(50) P. BOTHOREL : J. Colloïd Sciences (1968) 27, 529.

(51) C. SUCH, C. CLEMENT, P. BOTHOREL : C.R. Acad. Sci. (1970) 271 (C), 228.

(52) B. LEMAIRE, G. FOURCHE, P. BOTHOREL : C.R. Acad. Sci. (1972) 274 (C), 1481.

(53) P. BOTHOREL, C. SUCH, C. CLEMENT : J. Chim. Phys. (1972) 10, 1453.

(54) G. GODBOUT, Y. SICOTTE : Canadian J. Chem. (1968) 46, 967.
A.S. STUART : "Molekülstruktur" - Springer Verlag - Berlin (1967).

(55) R.A. DEMEL, K.R. BRUCKDORFER, L.M. VAN DEENEN : B.B.A. (1972) 255, 311.

(56) R.A. LONG, F.HRUSKER, H.D. GESSER, J.C. HSIA, R. WILLIAMS : Bioch. Biophys. Res. Comm. (1970) 41, 321.

(57) R.A. VANDENHEUVEL : Annals N.Y. Acad. Sci. (1965) 122, 57.

(58) D. CHAPMAN et PENKETT : Nature (1966) 211, 1305.

(59) A. DARKE, E.G. FINER, A.C. FLOOK, M.C. PHILLIPS :
F.E.B.S. Letters (1971) 18 (2) 326.
J. Mol. Biol. (1972) 63, 265.

(60) F.B. MARTIN : Thèse n° 141 Bordeaux (1971).

(61) G.D. PATTERSON et P.J. FLORY : Trans-Faraday Soc. (1971) 00, 000.

APPENDICE : ETABLISSEMENT DE L'EXPRESSION DE $J_{12}^{A\infty}$

KIELICH a montré |28| que l'anisotropie effective Γ_m^2 d'un milieu diffusant composé de plusieurs espèces de molécules anisotropes de type LANGEVIN s'exprime suivant :

$$\Gamma_m^2 = \sum_i x_i \gamma_i^{o2} + \sum_{ij} x_i x_j \Gamma_{ij}^2 + \sum_{ijk} x_i x_j \kappa \Gamma_{ijk}^2 \cdots$$

Formule dans laquelle

x_i est la fraction molaire relative au constituant i. S'il y a n constituants, les indices i, j, k ... peuvent varier indépendamment de 1 à n.

γ_i^{o2} est l'anisotropie optique intrinsèque de la molécule i.

Lorsqu'on ne considère que des corrélations bimoléculaires, cette expression se simplifie.

Si de plus, on néglige les corrélations de translation qui sont faibles dans le cas de molécules très anisotropes, |60||61|

Alors $\Gamma_{ijk}^2 = 0$

$$\Gamma_{ij}^2 = \gamma_i^o \gamma_j^o J_{ij}^A$$

Par conséquent :

$$\Gamma_m^2 = \sum_i x_i \gamma_i^{o2} + \sum_{ij} x_i x_j \gamma_i^o \gamma_j^o J_{ij}^A$$

Soit en développant :

$$\Gamma_m^2 = x_1 \gamma_1^{o2} (1 + x_1 J_{11}^A) + x_2 \gamma_2^{o2} (1 + x_2 J_{22}^A) + 2x_1 x_2 \gamma_1^o \gamma_2^o J_{12}^A \quad (1)$$

Par analogie avec la définition de l'intensité molaire apparente Φ_2 :

$$\Phi_2 = \frac{y - x_1 y_1}{x_2} \qquad |53|$$

on peut définir une anisotropie optique moléculaire apparente mesurée dans un solvant anisotrope :

$$\gamma_2^2(a) = \frac{\Gamma_m^2 - x_1 \gamma_1^{\oplus 2}}{x_2}$$

Formule dans laquelle $\gamma_1^{\oplus 2}$ est l'anisotropie optique moléculaire du liquide pur.

En remplaçant Γ_m^2 par son expression (1), on obtient :

$$\gamma_2^2(a) = \frac{x_1}{x_2} \gamma_1^{\circ 2} (1 + x_1 J_{11}^A) - \frac{x_1}{x_2} \gamma_1^{\oplus 2} + \gamma_2^{\circ 2} (1 + x_2 J_{22}^A) + 2 x_1 \gamma_1^\circ \gamma_2^\circ J_{12}^A$$

Dans le cas des solutions diluées : $x_2 \to 0$

$x_1 \to 1$

Les molécules de soluté s'éloignent les unes des autres, les corrélations d'orientation de type 2-2 s'annulent : $J_{22}^A \to 0$ quand $x_2 \to 0$.

$$\lim_{x_2 \to 0} \gamma_2^{\circ 2} (1 + x_2 J_{22}^A) = \gamma_2^{\circ 2}$$

La contribution du solvant à l'anisotropie optique :

$$(\gamma_1^2) \text{ dans la solution } = \gamma_1^{\circ 2} (1 + x_1 J_{11}^A)$$

devient celle du solvant pur lorsque $x_1 \to 1$

$$\lim_{x_1 \to 1} (\gamma_1^2) \text{ dans la solution} = \lim_{x_1 \to 1} |\gamma_1^{\circ 2} (1 + x_1 J_{11}^A)| = \gamma_1^{\oplus 2}$$

Lorsque $x_2 \to 0$, la formule (2) devient alors :

$$\gamma_2^{2\infty}(a) = \frac{x_1}{x_2} \gamma_1^{\oplus 2} - \frac{x_1}{x_2} \gamma_1^{\oplus 2} + \gamma_2^{\circ 2} + 2 \gamma_1^\circ \gamma_2^\circ J_{12}^{A\infty}$$

d'où :

$$J_{12}^{A\infty} = \frac{\gamma_2^{2\infty}(a) - \gamma^{\circ 2}_2}{2 \gamma_1^\circ \gamma_2^\circ}$$

$\gamma_i^{\circ 2}$ est l'anisotropie optique intrinsèque du composé i, en première approximation c'est l'anisotropie du composé i mesurée dans un solvant quasi-isotrope : le cyclohexane, à dilution infinie : $\gamma_i^{\circ 2} = \gamma_i^{2\infty}(i)$.

$$J_{12}^{A\infty} = \frac{\gamma_2^{2\infty}(a) - \gamma_2^{2\infty}(i)}{2 \gamma_1^\infty(i) \gamma_2^\infty(i)}$$

Vu et approuvé
Bordeaux le
Le Président de l'Université
de Bordeaux I

Centre de Recherche Paul PASCAL
Service Reprographique
Domaine Universitaire
33405 TALENCE